

# **Die Morphogenese pflanzlicher Zellen im elektrischen Feld**

Habilitationsschrift  
zur Erlangung der Venia legendi  
an der Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der **Friedrich-Alexander-Universität**  
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt  
von  
**Dr. Friedrich-Wilhelm Bentrup**

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

1968



Dekan: Professor Dr. W. Haupt

1. Berichterstatter: Professor Dr. W. Haupt, Erlangen

2. Berichterstatter: Professor Dr. E. Bünning, Tübingen

Tag des Colloquiums : 21. 2. 1968

Tag der Probevorlesung: 8. 5. 1968

Sonderdruck aus: Z. Pflanzenphysiol.  
Bd. 59, Heft 4, S. 309-339 (1968)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg

## Die Morphogenese pflanzlicher Zellen im elektrischen Feld\*)

FRIEDRICH-WILHELM BENTRUP

Mit 13 Abbildungen im Text

Eingegangen am 29. April 1968

### Summary

#### Morphogenetic Responses of Plant Cells in Electric Fields

This paper describes and analyzes the influence of electric fields upon morphogenetically active cells of some lower plants. Experimentally this was achieved by subjecting each cell of a given population to a known electrochemical gradient within the culture medium. The medium is an electrolyte solution of known conductivity.

In all instances investigated, the morphogenetic process in question turned out to be inducible by transcellular potential differences in the order of 1 to 10 millivolts, that is, by electric fields of about 0.1 to 1 Volt/cm; viz. the polarity in spores of the horse-tail *Equisetum* (fig. 6), of the moss *Funaria*, and zygotes of the brown alga *Fucus* (fig. 5), furthermore the tropic orientation of the rhizoid cells of 24 hours old germlings of these species (fig. 11, table 4 and 5).

Generally, cell growth oriented in this way can proceed either toward the anode or toward the cathode. In two instances analyzed in more detail, the polarity in *Equisetum* and *Fucus*, the sign of orientation proved to be dependent upon the cell's developmental stage (*Equisetum*: fig. 7) and the medium's potassium ion concentration (*Fucus*: fig. 10). Since the applied electric field primarily causes an increase or decrease of the potential difference at the plasmalemma («membrane potential») at two opposite cell poles, the field's morphogenic action might be due to a transcellular difference in «membrane potential», that is, a transcytoplasmic potential difference. This can be inferred from data on the *Fucus* egg polarity (fig. 10). In particular, it is argued that the cell's rhizoid pole originates where the «membrane potential» is shifted furthest from its resting value, be it hyper- or depolarization. Hence, the axis of polarity does not necessarily agree in sign with the electric field determining it.

A comparison of the course of electro- and photo-sensitivity reveals coincidence in *Equisetum* spores, while in *Fucus* eggs the former precedes the latter by 8 hours (fig. 9). Electro- and photo-induced rhizoid cell growth in *Fucus* were compared quantitatively (fig. 12); here, a transcellular potential difference of one millivolt and absorption of  $5 \cdot 10^5$  quanta/sec of blue light (456 m $\mu$ ) per rhizoid cell are about equivalent to elicit a given degree of the tropic response. This relationship was verified by an experiment where both factors, administered simultaneously, perfectly cancelled each other (table 6).

### Zusammenfassung

Die Arbeit demonstriert und untersucht den Einfluß elektrischer Felder auf morphogenetische Prozesse in pflanzlichen Zellen. Dazu wurde eine Methode entwickelt, die es ermöglicht, Zellen in ihrem Kulturmedium meßbaren elektrochemischen Gradienten zu unterwerfen.

\*) Habilitationsschrift der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg.

Als elektrisch induzierbar erwiesen sich alle untersuchten Fälle: die Polarität in *Equisetum*- und *Funarias*sporen sowie in *Fucus*zyten, ferner die tropistische Krümmung der Rhizoidzellen dieser Objekte. Die jeweils induzierte Zellwuchseinrichtung kann anodisch oder kathodisch orientiert sein – und zwar auch bei ein und derselben morphogenetischen Reaktion, wobei dann andere Faktoren das Vorzeichen kontrollieren. Versuche an *Fucus* sprechen dafür, daß die Primärwirkung des elektrischen Feldes, nämlich die lokale Änderung der elektrischen Potentialdifferenz am Plasmalemma («Membranpotential»), Ursache der Reaktion und quantitativ mit deren Ausmaß verknüpft ist.

### Einleitung

Die Existenz bioelektrischer Felder im pflanzlichen und tierischen Organismus ist seit den Arbeiten LUNDS (Zusammenfassung 1947) erwiesen. An Zellfäden der Cladophoraceae *Pithophora* maß er außen etwa 200 mV/cm, wobei die Feldrichtung mit der Zellpolarität korreliert ist: das Cytoplasma des apikalen Zellpols ist relativ elektronegativ. 1966 gelang JAFFE der Nachweis, daß die *Fucus*zygote synchron mit ihrer Differenzierung in Thallus- und Rhizoidpol ein Feld aufbaut, das 10 h nach Befruchtung einen transzellulären Strom von  $6 \cdot 10^{-11}$  Ampere treibt. Auch hier ist das Feld zum apikalen Zellpol gerichtet.

Entwicklungsphysiologen sehen in solchen bioelektrischen Feldern ein Koordinatensystem, an dem die Zelle ihr räumliches Differenzierungsmuster zu orientieren vermag. In Form einer Elektrophorese könnten Substanzen im Protoplasten wandern. Diese Hypothese stammt von MATHEWS (1903) und wurde von SPEK (1930) und WENT (1932) ausgebaut. Bis heute ist seine Richtigkeit experimentell noch nicht erwiesen (vgl. JAFFE 1968).

Wo in der Zelle und wann ist nun der Ursprung des elektrischen Feldes zu suchen? Diese Frage läßt sich nur an solchen Keimzellen studieren, die zunächst praktisch apolar sind und dann ihre Morphogenese mit der Differenzierung in apikalen und basalen Zellpol beginnen. Diese Bedingung wird von der Spore des Schachtelhalmes und der oben bereits erwähnten *Fucus*zygote erfüllt. Wichtigstes Indiz für die zunächst apolare Struktur der Zelle ist die sehr leichte Induzierbarkeit der Polarität durch viele Außenfaktoren. Können diese Außenfaktoren ein elektrisches Feld in der Zelle induzieren? Ein Studium des Induktionsvorganges sollte die Frage nach dem Ursprung des bioelektrischen Feldes lösen helfen. Als der dafür geeigneteste Außenfaktor muß das elektrische Feld gelten.

Die Induzierbarkeit der Polarität durch ein externes elektrisches Feld hatte LUND (1923) an der *Fucus*zygote entdeckt. Wie zu zeigen sein wird, trifft die Induzierbarkeit für alle bisher untersuchten Fälle zu und kann als Hinweis auf die Brauchbarkeit dieses Außenfaktors gewertet werden. Entscheidend für eine erfolgreiche Bearbeitung ist jedoch, daß eine quantitative Grundlage existiert, nämlich das elektrochemische Konzept von der Funktion der Zellmembran. Dieses Konzept wurde besonders durch die nervenphysiologischen Studien von HODGKIN und Mitarbeitern (vgl. HODGKIN 1964), GOLDMAN (1943), TEORELL (1953) und USSING (1949) erarbeitet. Es erlaubt eine quantitative Beurteilung der elektrischen Vorgänge an der Zellmembran auf Grund der meßbaren elektrischen Eigenschaften sowie der aktiven und passiven Ionenbewegun-

gen zwischen der Zelle und ihrem Milieu. Die ausdifferenzierte pflanzliche Zelle wird seit wenigen Jahren an Hand dieses Konzeptes erfolgreich untersucht – trotz der Komplikation, die sie durch den Besitz der (elektrisch geladenen) Zellwand sowie einer weiteren plasmatischen Membran (des Tonoplasten) und einer weiteren Phase (der Vakuole) verursacht (Literatur bei BRIGGS, HOPE und ROBERTSON 1961, sowie DAINY 1962). Eine Bearbeitung embryonaler Pflanzenzellen mit den elektrophysiologischen Standardmethoden steht wegen der großen methodischen Schwierigkeiten noch aus. Daher stehen vergleichsweise wenig relevante elektrophysiologische Daten zur Beurteilung des Problems zur Verfügung. Dieser Nachteil wiegt jedoch darum nicht so schwer, weil die Unterschiede selbst zwischen tierischen und pflanzlichen Zellen relativ gering und zudem meistens gut begründbar sind, so daß brauchbare Analogieschlüsse möglich sind.

Im Sinne der Problemfassung besteht die experimentelle Aufgabe darin, die Zellen in ihrem Kulturmedium (stets ein Elektrolyt) einem definierten elektrochemischen Gradienten zu unterwerfen. Dafür gibt es grundsätzlich zwei Lösungen:

1. *Aufbau eines konstanten Konzentrationsgradienten* für ein Ion  $i$ . Die Zellen liegen auf der Grenze zweier Phasen, die sich durch die Konzentration des Ions  $i$ , und somit im chemischen Potential  $\mu_i$  unterscheiden. Dann wären die Zellen dem elektrochemischen Gradienten  $\Delta\mu_i$  ausgesetzt. Dieser Ansatz wurde bereits verwirklicht (BENTRUP et al. 1965, 1967), ist aber aus methodischen Gründen für das vorliegende Problem nicht geeignet (vgl. S. 327).

2. *Aufbau eines elektrischen Feldes* im Medium, wobei es auf die transzelluläre Differenz im elektrischen Potential  $-\Delta\varphi = \varphi_1 - \varphi_2$  ankommt; dabei sind  $\varphi_1$  und  $\varphi_2$  die elektrischen Potentiale des Mediums an den Zellpolen. Mit diesem Ansatz befaßt sich die vorliegende Arbeit.

Als Objekte wurde außer den bereits genannten, *Fucus*zygote und *Equisetum*spore, die *Funarias*spore genommen. Neben dem morphogenetischen Vorgang der Polaritätsinduktion wurde noch ein weiterer, nämlich die Modifizierung einer bereits manifestierten Polaritätsachse untersucht, und zwar die elektrotrope Reaktion des *Funaria*-chloronemas sowie der terminalen Rhizoidzelle vom *Fucus*- und *Equisetum*keimling. Vorläufer dieser Untersuchung sind zwei Berichte über Elektrotropismus von Pollenschläuchen (WULFF 1935 und MARSH und BEAMS 1944). Von den insgesamt sechs Fällen wurden drei lediglich qualitativ erfaßt; eingehender studiert wurden die Polaritätsinduktion bei *Fucus* und *Equisetum* sowie der Elektromorphismus der *Fucus*rhizoide, ferner zum Vergleich deren Phototropismus.

## Material und Methoden

### A. Kulturmedien

1. *Seewasser*: Für die Versuche mit *Fucus* wurde im allgemeinen natürliches Seewasser vom Standort (Helgoland) verwendet. Wo die Ionenzusammensetzung variiert werden sollte, wurde ein synthetisches Medium hergestellt, das in seinen Hauptkomponenten mit natürlichem Seewasser identisch ist und sich wie folgt zusammensetzt (mM auf 1 Ltr. aqua dest.): NaCl : 495,0–

–  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  : 27,6 –  $\text{MgCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  : 24,9 –  $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  : 10,0 –  $\text{KCl}$  : 9,7 –  $\text{NaHCO}_3$  : 2,0.

Durch Zusatz von 10 mM TRIS/HCl wurde das Medium gepuffert (pH 7,9).

Die  $\text{K}^+$ -Konzentration wurde variiert, indem die Molarität von KCl auf Kosten der von NaCl modifiziert wurde. Da NaCl ca. 80 %, KCl aber weniger als 2 % des gesamten Seewasser-Salzgehaltes ausmacht, kann man die  $\text{K}^+$ -Konzentration leicht dritteln oder verdreifachen, ohne die  $\text{Na}^+$ -Konzentration wesentlich zu verändern. Alle verwendeten Lösungen sind somit von gleicher Osmolarität.

Tabelle 1

Ionenleitfähigkeit  $\kappa$  und pH-Wert der verwendeten Kulturmedien, gemessen bei 15° C mit der HEATHKIT-Impedanzmeßbrücke IB-2A.

| Medium                   | $\kappa$ [ $\text{Ohm}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ] | pH            |
|--------------------------|----------------------------------------------|---------------|
| Natürliches Seewasser    | 0,0385                                       | $7,9 \pm 0,1$ |
| Synthetisches Medium mit |                                              |               |
| 3 mM KCl                 | 0,0397                                       | $7,8 \pm 0,2$ |
| 10 mM KCl                | 0,0395                                       |               |
| 20 mM KCl                | 0,0395                                       |               |
| 30 mM KCl                | 0,0397                                       |               |
| MERCK-BENECKE-Lösung     | $6,5 \cdot 10^{-4}$                          | $6,0 \pm 0,2$ |

2. *Merck-Benecke-Lösung*: Dieses Medium, das für die Versuche mit *Equisetum* und *Funaria* verwendet wurde, setzt sich wie folgt zusammen (mM auf 1 Ltr. aqua dest.):  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  : 0,6 –  $\text{KNO}_3$  : 0,7 –  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$  : 0,8 –  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 0,5 –  $\text{FeCl}_3$  :  $0,6 \cdot 10^{-4}$ . Durch Zusatz von HCl wurde ein pH von 6,0 eingestellt.

Ionenleitfähigkeit und pH-Wert aller verwendeten Lösungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt. In dieser Arbeit beziehen sich Angaben in mM stets auf 1 Liter.

## B. Kultur und Präparation der verwendeten Organismen

1. *Fucus*zygoten und -keimlinge: Fertile Thallusspitzen von *Fucus serratus* wurden im Felswatt vor Helgoland gesammelt und in Thermoströhlchen nach Erlangen geschickt, wo das Material etwa 8–10 Tage lang intakte Gameten abgab. Die Gameten werden in Seewasser suspendiert, mehrfach gewaschen und vereinigt. 10 min später ist die Befruchtung von mehr als 90 % erfolgt; von diesem Zeitpunkt an wird das Alter der Zygoten gerechnet. Die Zellen ( $\varnothing 70 \mu$ ) werden dann innerhalb weiterer 20 min im Seewasser auf Objektträger pipettiert. Dort heften sie sich durch Schleimbildung innerhalb einer Stunde fest. Die Kultur erfolgte bei + 15° C im HERAUS-Lichtthermostaten (Type KKB 600 L). Das Material für Versuche zur Polaritätsinduktion wurde im Dunkeln kultiviert.

*Fucus*keimlinge für die tropistische Versuche wurden gewonnen, indem die Zygoten im Lichtthermostaten mit polarisiertem Licht (ca. 2000 lx Weißlicht) so induziert wurden, daß alle Rhizoide parallel orientiert auswuchsen (vgl. BENTRUP 1963). Dabei wird die Lichtschwingungsrichtung so zum Objektträger orientiert, daß gewünschte Winkel zwischen Keimlingsachse und Längsseite des Objektträgers, d. h. zur Richtung des später anzulegenden elektrischen Feldes resultieren. 24–36 h alte Keimlinge haben 3- bis 4zellige Rhizoide von ca. 150  $\mu$  Länge. Die tropistische Reaktion ist auf die terminale Zelle (um 50  $\mu$  lang und 10  $\mu$  dick) beschränkt.

2. *Equisetum*sporen und -rhizoide: Sporen von *Equisetum limosum* wurden im Botanischen Garten Erlangen, von *Equisetum variegatum* im Botanischen Garten München gesammelt<sup>1)</sup>. Die Sporen ( $\varnothing 65 \mu$ ) werden auf trockenen Objektträgern ausgesät und dann mit handwarmem

<sup>1)</sup> Herrn Doz. Dr. A. HAGER, München, danke ich für seine freundliche Hilfe.

flüssigem 1%igem Agar (Merck-Benecke-Lösung) 1 bis 2 mm hoch überschichtet. Die stark hydrophoben Plexiglas-Objektträger (s. u.) werden präpariert, indem man eine sehr dünne Agarschicht auf ihnen eintrocknen läßt. Die Präparate werden bei  $(20 \pm 1)^\circ \text{C}$  unter ca. 2000 lx morphogenetisch unwirksamen Rotlicht ( $\lambda > 550 \text{ nm}$ ) kultiviert.

*Equisetum*rhizoide von 150–200  $\mu$  Länge und ca. 10  $\mu$  Dicke treten am 36–48 h alten Keimling auf. Um parallel orientierte Rhizoide zu erhalten, wird auch bei *Equisetum* die Keimlingspolarität mit polarisiertem Licht induziert.

3. *Funariasporen und -chloronemen*: Sporen ( $\varnothing 10 \mu$ ) von *Funaria hygrometrica*<sup>2)</sup> werden für die Polaritätsinduktion wie *Equisetum*sporen präpariert und kultiviert. Keimlinge mit parallel orientierten Chloronemen ( $\varnothing 5\text{--}8 \mu$ ) werden so gewonnen, wie dies für die *Fucus*- und *Equisetum*rhizoide beschrieben wurde.

### C. Die Versuchsanlagen

1. *Die elektrische Bank*: Da die Methoden der eingangs zitierten Arbeiten (LUND 1923, WULFF 1935, MARSH u. BEAMS 1945) prinzipielle Mängel und Beschränkungen aufwiesen, wurde eine Methode entwickelt, die folgenden Anforderungen genügt:

- a) Meß- und berechenbare elektrochemische Gradienten im Kulturmedium;
- b) wirksame Ableitung der gemäß  $I^2R$  ( $I$  = Stromstärke,  $R$  = OHMScher Widerstand) entstehenden, z. T. erheblichen Wärme im Medium;
- c) Konstanz in der Zusammensetzung des Mediums, d. h. Abschirmung durch Diffusionsbarrieren gegen Elektrodenräume;
- d) Flexibilität in der Wahl der Präparation sowie der Abmessung der Präparate;
- e) mikroskopische Beobachtbarkeit der Zellen während des Versuches.

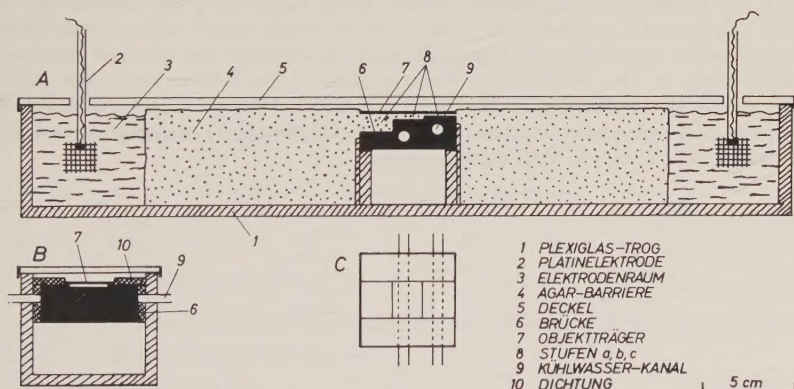


Abb. 1: Schema der elektrischen Bank. A: medianer Längsschnitt. B: Querschnitt im Brückenraum. C: Brücke in Aufsicht mit Stufenabmessungen und – gestrichelt – Kühlwasserkänen. Weiteres siehe Text.

Fig. 1: Diagrammatic view of the electrical bench to establish known transcellular electrochemical gradients. The cells are fixed to the slide (7) covering the bridge (6) which, by its geometry, yields 3 different gradients (8) at a time.

Abb. 1 zeigt eine Skizze der verwendeten Apparatur. Ein Plexiglastrog (1) ist in zwei Reservoirs gegliedert, die jeweils in Elektrodenraum (3) und Agarbarriere (4) flexibel unterteilbar sind und über die Brücke (6) kommunizieren. Als Elektroden dienen Platinnetze (2), als

<sup>2)</sup> Die Sporen hat Herr Prof. Dr. M. BOPP, Hannover, unserem Institut freundlicherweise überlassen.

Elektrolyt das betreffende Kulturmedium. Die Agarbarrieren werden auch aus dem Kulturmedium mit 2 % Agar hergestellt und sind so bemessen, daß über die jeweilige Versuchsdauer hinweg die durch Elektrodenpolarisation erzeugte Änderung im Medium sich nicht bis in den Brückenraum fortpflanzen kann. Dies wurde an Hand der betreffenden Diffusionskoeffizienten und Ionenbeweglichkeiten ermittelt.

Die Brücke (6) besteht aus einem Aluminiumkern<sup>1)</sup>, der mit 0,8 mm starkem Plexiglas verkleidet ist und von Kühlwasser durchströmt wird (9), das von einem COLORA-Ultrathermostaten (Typ NB-DS) mit Tauchkühler TK 64 auf der gewünschten Temperatur gehalten wird. Die Temperatur im Brückenraum (8) wurde mit einer Thermonadel in Gegenwart verschiedener Feldstärken geprüft; sie stieg selten um mehr als 2° C und nie um mehr als 4° C über die eingestellte Temperatur. Versuchsweise wurden die Aluminiumkerne mit TEFLON beschichtet<sup>2)</sup>, da diese Substanz auf Grund ihrer dielektrischen Eigenschaften und ihrer Verträglichkeit für biologisches Material als ideal geeignet erscheinen muß; leider ist eine porenfreie Beschichtung problematisch. Der Brückenraum (8) ist so abgestuft (a, b, c), daß dort drei verschiedene Feldstärken nebeneinander herrschen, je nach Brücke etwa 1 : 2,5 : 9 (daher «elektrische Bank» in Analogie zur optischen Bank). Der Objektträger (7), an dem die Zellen mit oder ohne Agar hängend fixiert sind, mißt z. B. 15 mal 45 mm und bietet pro Stufe eine nutzbare Fläche von etwa 1 cm<sup>2</sup>, auf der eine Population von 200 bis 300 Zellen Platz findet – diese Zahl bestimmte die Dimension der ganzen Apparatur.

2. Die Versuchsanordnung geht aus der Schaltskizze (Abb. 2) hervor: Als Stromquelle dienen Gleichrichter (G), zunächst ein selbstgefertigter, dann das Modell IP-32 E von HEATHKIT. Die elektrische Bank (B), eine HEATHKIT-Widerstandsdekade (R) und ein Amperemeter (A; Spiegelgalvanometer AL 4 oder BD 2 von KIPP und ZONEN) waren in Serie geschaltet (Schaltkreis 1 in Abb. 2). Die gewünschten Feldstärken wurden durch Regulierung des Stromflusses erreicht und auf  $\pm 5\%$  konstant gehalten. Der Widerstand R wurde immer um ein Mehrfaches über dem Widerstand der elektrischen Bank gewählt, um Schwankungen des letzteren zu relativieren.

Der Meßkreis (2 in Abb. 2) diente zur direkten Messung der Feldstärken in der elektrischen Bank. Mit zwei Kalomel-Halbzellen (K) wurden über Salzbrücken (Glaskapillare) die Spannung zwischen interessierenden Punkten (Löcher im Objektträger) abgegriffen und über ein Röhrenvoltmeter (V; R = 100 MegOhm) gemessen.

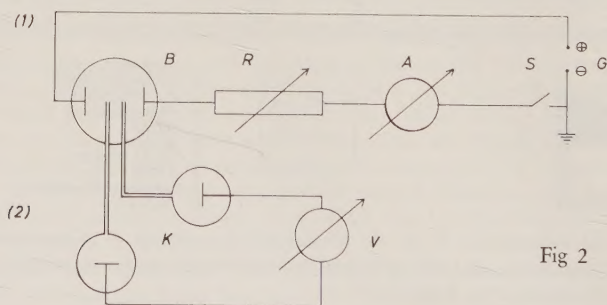


Fig 2

Abb. 2: Schaltskizze für (1) den Stromkreis bei Betrieb der elektrischen Bank und (2) den Meßkreis zur Bestimmung der Feldstärken in der Bank. Erläuterung siehe Text.

Fgi. 2: (1) Circuit of the electrical bench (B), and (2) circuit to measure the potential profile in the latter by calomel electrodes (K) via salt bridges.

<sup>1)</sup> Herr H. MÜLLER, Werkmeister am Botanischen Institut, fertigte die verschiedenen Aluminium-Werkstücke an.

<sup>2)</sup> Herr F. FUCHS vom SIEMENS-Forschungszentrum Erlangen besorgte die Beschichtung.

Die auf Grund der angelegten elektrischen Feldstärke im Medium entlang eines Zelldurchmessers abfallende elektrische Spannung wird als  $U_z$  bezeichnet (vgl. S. 324). Dieser Bezug auf die Zellgröße erscheint sinnvoll. Die Definition von  $U_z$  vernachlässigt, daß das Feld in der Umgebung der Zelle nicht homogen ist, weil der spezif. Widerstand der Zelle um Größenordnungen über dem des Mediums liegt. Die wahre transcelluläre Feldstärke  $U_z'$  erfordert eine Berücksichtigung der Zellgeometrie (Kugel bzw. Zylinder) und der spezif. Widerstände und müßte für jeden einzelnen Fall berechnet werden.  $U_z'$  dürfte aber kaum mehr als das 1,5fache von  $U_z$  betragen. Da Unterschiede dieser Größenordnung vorerst noch nicht in die Betrachtung der Ergebnisse eingehen, wird in dieser Arbeit  $U_z' = U_z$  gesetzt.

3. *Optische Einrichtungen.* Monochromatische Strahlung von 456 nm wurde mit einem Interferenzlinienfilter (Halbwertsbreite 12 nm) der Firma SCHOTT erzeugt. Als Lichtquelle diente die WILD-Universal-Mikroskopierlampe mit einer Quarz-Jodid-Lampe 100 W/12 V. Die Lichtintensität wurde mit einer Photozelle (B. LANGE) gemessen, die für 456 nm gegen eine Thermo-säule (KIPP und ZONEN) kalibriert ist. Die Bestrahlung der *Fucus*-Präparate erfolgte in Glas-küvetten; diese steckten in Styropor-isolierten Aluminium-Werkstücken, die ebenfalls an den genannten Kühlwasserkreislauf angeschlossen waren. In den Kompensationsexperimenten fiel das Licht parallel zur Längsachse der elektrischen Bank (von links in Abb. 1) und um  $15^\circ$  gegen diese geneigt auf das Präparat.

Die mikrospektralphotometrische Bestimmung wurde mit einem Prototyp des ZEISS-Mikro-skopphotometers durchgeführt, wobei das genannte Interferenzfilter 456 nm verwendet wurde. Der Meßfleck hatte einen Durchmesser von  $5,5 \mu$  (Rhizoidzelle:  $18 \mu$ ).

#### D. Auswertung

1. *Messung der Polaritätsinduktion:* Als Parameter diente der von HAUPT (1957) für diesen Zweck eingeführte Induktionsvektor

$$V = \frac{1}{N} \sum (n_a \cdot \cos \alpha) 100 \text{ } \%, \quad (1)$$

dabei ist:

$N$  = Populationsumfang,

$\alpha$  = Winkel zwischen Richtung des induzierenden Faktors und der induzierten Zellpolaritätsachse,

$n$  = Bruchteil der Population pro  $45^\circ$ -Winkelkategorie.

Orientierung des Rhizoidpols aller Zellen einer Population in der Kategorie  $\alpha = (180 \pm 22,5)^\circ$  bedeutet somit  $V = 100 \text{ } \%$ , bei  $\alpha = (0 \pm 22,5)^\circ$  dann  $V = -100 \text{ } \%$ . Die übrigen sechs  $45^\circ$ -Sektoren sind paarweise symmetrisch zur  $0-180^\circ$ -Achse und daher äquivalent. So ergeben sich insgesamt  $2 + 3 = 5$  Winkelklassen.

Abb. 3 zeigt die typische Verteilung in einer Population, für die sich nach Gl. (1)  $V = 68,0 \text{ } \%$  ergibt. Unter bestimmten Versuchsbedingungen tritt statt dieser unipolaren Verteilung eine bipolare auf, für die Gl. (1) wie folgt abgewandelt wird:

$$V' = \frac{1}{N} \sum (n_a \cdot \cos 2\alpha) 100 \text{ } \%, \quad (1a)$$

Abb. 3 zeigt ebenfalls eine bipolare Verteilung mit  $V' = 35,5\%$ ; für  $V$  ergäben sich in diesem Fall  $13,5\%$ . Die Verteilung der in dieser Arbeit wiedergegebenen Vektoren ist fast immer unipolar, d.h. in der Ebene des elektrischen Feldes anodisch oder kathodisch. Der Induktionsvektor  $V$  wird dann entweder als  $V_a$  (anodisch) oder als  $V_k$  (kathodisch) angegeben. Abweichungen müssen als Änderung des Reaktionsmodus aufgefaßt werden. So stellt die bipolare Verteilung in Abb. 3 ein Resultat dar, das Abb. 10 entnommen ist und dort diskutiert wird.

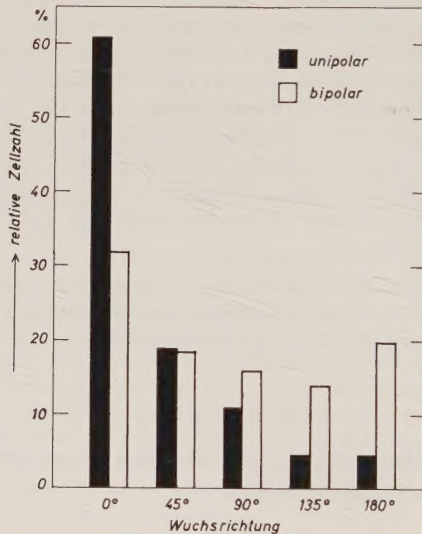


Abb. 3: Reaktionsmuster zweier induzierter *Fucus*-Populationen. Pro Winkelklasse (Abszisse) nennen die Säulen den Bruchteil  $n$  der Population in  $\%$  (vgl. Gl. 1 bzw. 1 a). Unipolare Verteilung:  $N = 223$ ,  $V = 68,0\%$  ( $V' = 54,0\%$ ); bipolare Verteilung:  $N = 268$ ,  $V' = 35,5\%$  ( $V = 13,5\%$ ).

Fig. 3: Angular outgrowth distribution histogram of 2 electro-induced *Fucus* egg populations. The bars reflect each population's outgrowth fraction  $n_a$  per angle category (cf. eq. 1 resp. 1 a). The data are drawn from fig. 10.

Wie HAUPT (1957) bereits erörterte, läßt sich die Signifikanz des Induktionsvektors einer Population ereignisstatistisch beurteilen, wenn man  $p$  = induziert und  $q$  = zufallsverteilt setzt.

Die Formel

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{1}{N} \cdot p \cdot q}, \quad (2)$$

wobei  $p + q = 100$  gilt, wird direkt anwendbar, wenn man den Induktionsvektor  $V$  gemäß Gl. (3) in  $p$  transformiert.

$$p = \frac{1}{2} (V + 100) \quad (3)$$

In dieser Arbeit wird immer  $V \pm 2\sigma$  angegeben. Bei dem Populationsumfang von 200 bis 300 Zellen, mindestens 100 pro Versuch, spiegelt  $\pm 2\sigma$  (d. h. Irrtumswahrscheinlichkeit  $p \leq 0,05$ ) die beobachtete Reproduzierbarkeit eines Versuches. Wo eine Signifikanz der Differenz zweier Vektoren von  $p \leq 0,0027$  wünschenswert erschien, wurde der  $\chi^2$ -Test angewendet, wie dies bereits früher geschehen war (BENTRUP 1964).

2. *Messung der tropistischen Reaktion.* Als Parameter wird der Winkel zwischen ursprünglicher und modifizierter Richtung der Zellachse (d. h. des Zellwachstums) benutzt: Krümmungswinkel  $\alpha$  in Abb. 4. Aus dieser Abbildung ist auch die Orientierung der verschiedenen tropistisch wirksamen Faktoren zur Zellachse ersichtlich. Die mikroskopische Winkelmessung erfolgte durch einen Okularraster, der durch Okulardrehung beliebige Winkel im Gesichtsfeld als Differenz mißt, die dann an einer Winkelgradskala außen am Mikroskoptubus auf  $\pm 3^\circ$  abgelesen wurde. Die dargestellten Meßwerte repräsentieren das Mittel von 90–120 Rhizoiden. Die Fehlerabschätzung erfolgte meßreihenstatistisch gemäß Gl. (4).

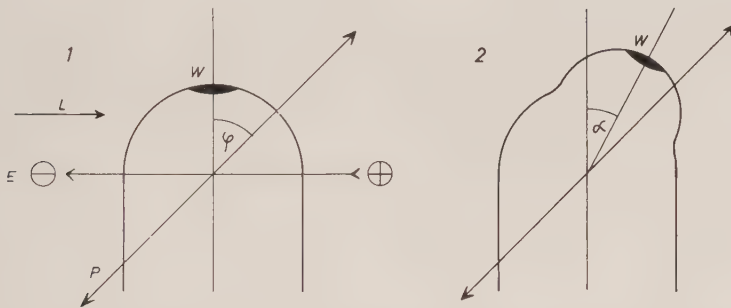


Abb. 4: Auslösung (1) und Messung (2) der tropistischen Reaktionen von Rhizoidzellen. (1) zeigt die Orientierung der verschiedenen Faktoren zur Zellachse ( $W$  = hypothetisches Wachstumszentrum);  $L$  = einseitig einfallendes unpolarisiertes Licht.  $P$  = elektrischer Vektor des linear polarisierten Lichtes, um den «Polarisationswinkel»  $\varphi$  zur Zellachse geneigt.  $E$  = Richtung des angelegten elektrischen Feldes. – (2) Die Reaktion (hier negativ phototrop bzw. positiv polarotrop bzw. positiv elektrotrop = anodisch) wird als Winkel  $\alpha$  gemessen.

Fig. 4: In (1) the orientation of the applied factors with respect to a rhizoid cell's long axis is diagrammed.  $W$  = cell's hypothetic growth point,  $L$  = unilaterally incident light,  $P$  = electrical vector of linearly polarized light vibrating perpendicularly to the drawing plane.  $E$  = direction of the electrochemical gradient. (2) shows the tropic response to be measured as the angular deviation  $\alpha$ .

$$s = \pm \sqrt{\frac{\sum (a - \bar{a})^2}{N(N-1)}} \quad (4)$$

Hier ist  $s$  der geschätzte einfache mittlere Fehler des Mittelwertes  $\bar{a}$ ,  $a$  der gemessene Winkel eines Rhizoides und  $N$  der Populationsumfang. Die Winkel  $a$  waren durchweg normalverteilt um ihren Mittelwert. Die dargestellten Daten sind wieder mit  $\pm 2s$  gekennzeichnet, da diese Fehlerspanne auch hier die beobachtete Reproduzierbarkeit

spiegelt. Um die Differenz zweier Winkel auf eine Signifikanz von  $p \leq 0,0027$  zu prüfen, wurde der  $t$ -Test angewendet.

Dann wird der mittlere Fehler der Differenz  $s_D$  gemäß Gl. (5) nach PÄTAU (1943) berechnet.

$$s_D = \sqrt{\frac{\sum_{\nu=1}^{N_1} (\alpha_1 - \bar{\alpha}_1)^2 + \sum_{\nu=1}^{N_2} (\alpha_2 - \bar{\alpha}_2)^2}{N_1 + N_2 - 2} \left( \frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \right)}. \quad (5)$$

Dabei beziehen sich die Indizes auf die beiden Populationen  $N_1$  und  $N_2$ . Schließlich wird der  $t$ -Wert nach Gl. (6) ermittelt und die zugehörige Wahrscheinlichkeit  $P$  für die Gültigkeit der Nullhypothese bei  $F = N_1 + N_2 - 2$  Freiheitsgraden in einer  $t$ -Tafel (z. B. bei PÄTAU 1943) aufgesucht.

Für den  $t$ -Wert gilt:

$$t = \frac{\bar{\alpha}_1 - \bar{\alpha}_2}{s_D}. \quad (6)$$

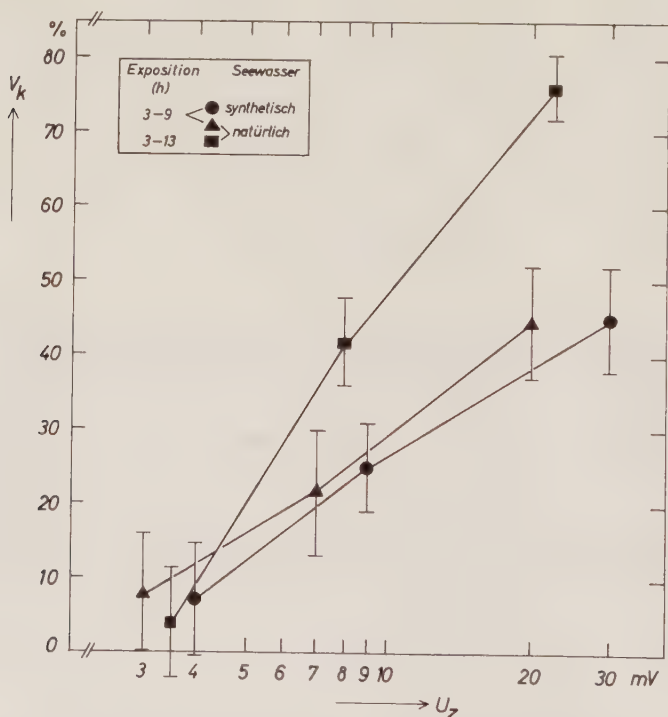


Abb. 5: Abhängigkeit der kathodischen ( $V_k$ ) Elektro-Polaritätsinduktion in *Fucus serratus*-Zygoten von  $U_z$  für verschiedene Expositionszeiten und Medien (siehe Diagramm).

Fig. 5. Cathode-directed rhizoid formation ( $V_k$ ) of *Fucus* eggs as a function of the trans-cellular electrochemical gradient  $U_z$  (see box).

## Ergebnisse mit Diskussion

## A. Die Entstehung der Zellpolarität im elektrischen Feld

## 1. Die Wirkung verschiedener elektrischer Feldstärken

a) *Fucus*: LUND (1923) hatte gefunden, daß die Zygoten von *Fucus inflatus* ihren Rhizoidpol anodisch orientierten. Versuche, dieses Resultat an *Fucus serratus* zu reproduzieren, schlugen insofern fehl, als unter LUNDS Bedingungen (von der Versuchstechnik abgesehen) stets kathodisch orientierte Rhizoidbildung beobachtet wurde. Im Laufe dieser Arbeit wird noch gezeigt, daß unter bestimmten Bedingungen auch die *Fucus-serratus*-Zygoten anodisch keimen können. Im natürlichen wie im synthetischen Medium normaler Zusammensetzung ergab sich an *Fucus serratus* aber stets die in Abb. 5 dargestellte kathodische Rhizoidbildung. Die gewählte Zeitspanne von 3 bis 13 h nach Befruchtung ist optimal: vorher sind die Zellen noch nicht absolut sicher am Substrat fixiert und nach 13 h wird die Polarität irreversibel stabilisiert (BENTRUP 1963).

b) *Equisetum*: Die Induzierbarkeit der Zellpolarität bei *Equisetum limosum* und *E. variegatum* beweist Abb. 6 (die Kurve für *E. limosum* wurde bereits mitgeteilt; BENTRUP 1967). Der *Equisetum*-Rhizoidpol wird unter den gegebenen Bedingungen anodisch angelegt.

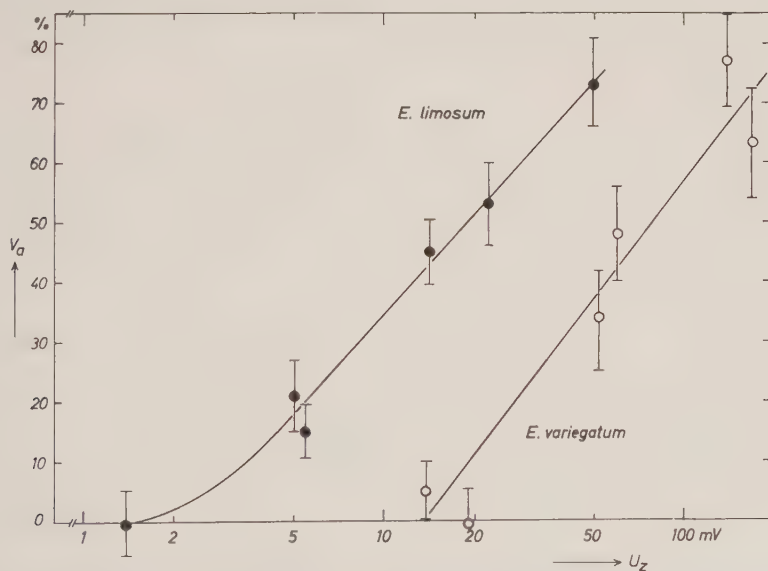


Abb. 6: Abhängigkeit der anodischen ( $V_a$ ) Elektro-Polaritätsinduktion bei *Equisetum*sporen von  $U_z$ . Die Expositionszeit betrug 10 h, beginnend 1 h nach der Aussaat.

Fig. 6: Anode-directed rhizoid formation ( $V_a$ ) of *Equisetum* spores versus  $U_z$ . The spores were exposed for 10 hours, starting one hour after imbibition.

c) *Funaria*: Die Spore wurde in einem orientierenden Versuch auf elektrische Induzierbarkeit geprüft. Hier ergibt sich die Schwierigkeit, daß rotes Licht einerseits zur Keimung nötig, andererseits aber auch induktiv ist (ETZOLD; persönl. Mitteilung). Daher wurde schwaches Rotlicht (80 lx oberhalb 550 nm) senkrecht zur Feldrichtung eingestrahlt. Der Versuch ergab eine klare kathodische Reaktion:  $V_k = 34,5\%$  ( $N = 417$ ) bei einer Feldstärke von 30 mV pro Zelle von 1 bis 17 h nach Aussaat. Die *Funaria*-spore erscheint untersuchungswert, weil der morphogenetische Vorgang bei der Sporenkeimung qualitativ verschieden von dem der beiden vorangestellten Objekte ist: die Polarisierung wird nicht durch eine Zellteilung in apikalen und basalen Pol abgeschlossen. Das zunächst auswachsende Chloronema kann daher nur bedingt als apikaler Pol angesehen werden.

Ein Vergleich von Abb. 5 und 6 lehrt, daß *Fucus* und *Equisetum* in der Reizschwelle (um 2 mV pro Zelle) und im Reaktionszuwachs von 60–70 % pro Zehnerpotenz gut übereinstimmen. Die Reizschwelle stimmt auch mit den (nur qualitativen) Angaben LUNDS (1923) überein, wenn man seine Werte für den richtigen spezifischen Widerstand des Seewassers korrigiert, der ihm durch unzureichende Meßtechnik um den Faktor 2,2 zu groß geraten war. Aus dem logarithmischen Anstieg der Reaktion über eine Zehnerpotenz hinweg kann geschlossen werden, daß in diesem Bereich der elektrochemische Induktionsvorgang die Schrittmacherrolle innehat. Im Reaktionssinn stimmen vorab nur *Equisetum* und – mit Vorbehalt (s. o.) – *Funaria* mit der Hypothese LUNDS (1947) überein, daß der apikale Zellpol in Richtung des elektrischen Feldes, sei dies endogen oder exogen, angelegt wird.

## 2. Die elektrosensible Phase

a) *Equisetum*: 2–4 h nach der Aussaat sind *Equisetum*sporen optimal lichtempfindlich; 7 h nach Aussaat ist ihre Polarität irreversibel fixiert (HAUPT 1957). Gilt dieser Verlauf des Polarisierungsvorganges auch für die Elektro-Induktion? Abb. 7 zeigt, daß die in Abb. 6 vorgestellte anodische Reaktion tatsächlich zwischen 2 und 4 h nach Aussaat am stärksten ausgeprägt ist; photo- und elektrosensible Phase stimmen also insoweit überein.

Darüber hinaus lehrt Abb. 7 aber, daß bei Exposition der Zellen in der 1. und 5. Stunde die inverse Reaktion, d. h. kathodische Rhizoidbildung, auftritt. Ferner fällt noch auf, daß die anodische Reaktion im Optimum der sensiblen Phase mit wachsender Feldstärke fällt. Die Befunde sind ohne weitere Versuche und ohne Kenntnis der Natur des Induktionsvorganges nicht durchschaubar.

b) *Fucus*: Die elektrosensible Phase der *Fucus*zygoten ist in Abb. 8 – auch für drei verschiedene Feldstärken – dargestellt. Das Bild stimmt qualitativ mit Abb. 5 überein; denn die anodische Reaktion um 1–3 und 11–13 h nach Befruchtung ist beim vorliegenden Populationsumfang nicht hochsignifikant. Zunächst mag auch hier der zeitliche Zusammenhang zwischen photo- und elektrosensibler Phase interessieren. Abb. 9 zeigt nun eine klare zeitliche Trennung beider Phasen. Die Applikation beider Faktoren an ein und derselben Population wurde noch nicht durchgeführt; dabei sollte sich eigentlich

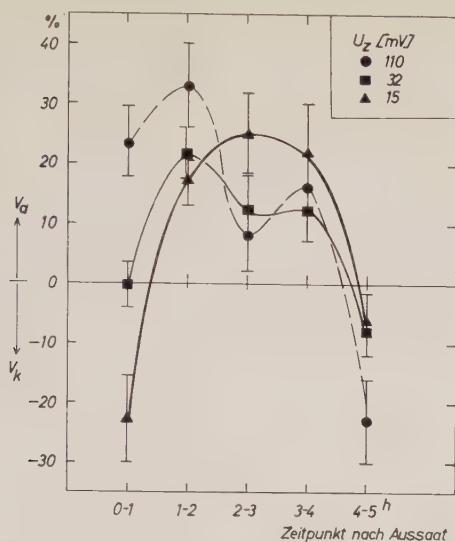


Abb. 7: Die elektrosensible Phase der Sporen von *Equisetum variegatum*. Die Ordinate nennt anodische ( $V_a$ ) und kathodische Reaktionen ( $V_k$ ). Die Exposition betrug 1 h.

Fig. 7: Electro-response of *Equisetum* spores exposed for one hour, as a function of the time after imbibition (abscissa).

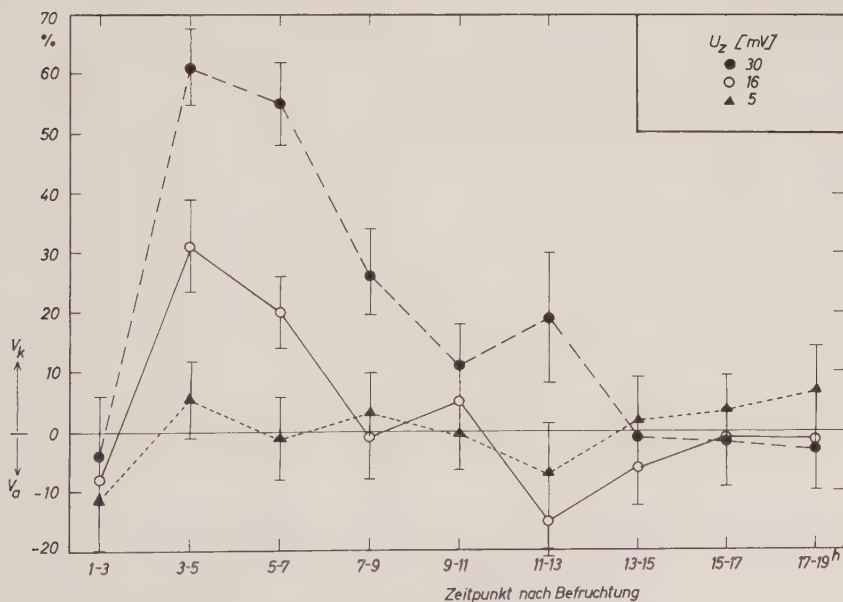


Abb. 8: Die elektrosensible Phase der *Fucus serratus*-Zygoten. Koordinaten wie in Abb. 7. Die Expositionszeit betrug hier 2 h.

Fig. 8: Same as fig. 7, concerning *Fucus* eggs exposed for 2 hours at different time after fertilization.

zeigen, ob die beiden Induktionsvorgänge in Serie oder parallel im Differenzierungs-gange liegen – im ersten Falle wäre multiplikative, im zweiten additive Verrechnung der Induktionsgrößen zu erwarten.

Ferner zeigt Abb. 9 eine rheosensible Phase, die sich auf die Induktion der Polarität in *Fucus furcatus*-Zygoten durch ein strömendes Medium bezieht (BENTRUP u. JAFFE 1966). Bei Strömungsgeschwindigkeiten  $\leq 10 \mu/\text{sec}$  trat stromabwärtige, bei 10 bis  $100 \mu/\text{sec}$  stromaufwärtige Rhizoidbildung ein; für beide rheotrope Reaktionen gilt die sensible Phase in Abb. 9. Die Reaktionen scheinen auf die Wirkung von Substanzen mit Wuchs- bzw. Hemmstoffcharakter zu beruhen, die wegen unterschiedlicher Diffusionskoeffizienten von  $10^{-7}$  bzw.  $10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$  bei verschiedenen Strömungsgeschwindigkeiten in Form von Konzentrationsgradienten wirksam werden. Die stromaufwärtige, hemmstoffobhängige Reaktion erreicht dabei Werte von  $V = 60\%$ , während in allen übrigen beobachteten rheotropen Reaktionen ein theoretisch begründbarer Wert von  $25\%$  nicht überschritten wird (vgl. auch MÜLLER u. JAFFE 1965). Für die stromaufwärtige Rhizoidbildung der *Fucus*zygote muß man daher mindestens mit einem zusätzlichen Mechanismus rechnen.

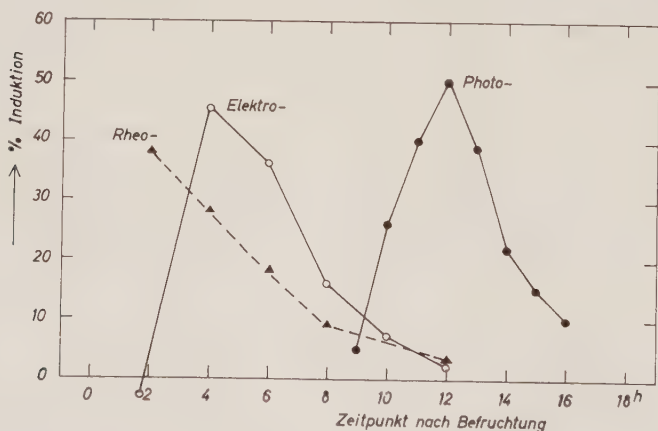


Abb. 9: Sensible Phasen für die Induktion der Polarität in *Fucus*-Zygoten durch verschiedene Faktoren: Rheosensible Phase für *F. furcatus* (nach BENTRUP u. JAFFE 1968), elektrosensible Phase für *F. serratus* nach Abb. 8, photosensible Phase für *F. serratus* (nach BENTRUP 1963). Die Ordinate gilt für stromaufwärtige (Rheo-), bzw. kathodische (Elektro-) und lichtabgewandte (Photo-)Induktion des Rhizoidpoles.

Fig. 9: Diagram to compare the sensitivity pattern of *Fucus* eggs to 3 different stimuli: a flowing medium (upstream rhetropism after BENTRUP & JAFFE 1968), an electric field (after fig. 8), and light (negative phototropism after BENTRUP 1963).

Aus der zeitlichen Übereinstimmung von elektro- und rheosensibler Phase (letztere wäre für *F. serratus* noch zu bestätigen) könnte man auf einen gemeinsamen Induktionsvorgang schließen. Die stromaufwärtige Rheo-Induktion kann als Elektro-Induktion erklärt werden, wenn man einen elektrokinetischen Effekt, und zwar ein Strömungspotential, annimmt. Die negativ geladene pektinöse Primordialwand der Zelle bildet eine elektrische Doppelschicht aus mit den Ionen des Mediums als den mobilen Gegenionen. Eine Strömung würde dann ein Strömungspotential erzeugen. Fraglich erscheint kaum die Existenz eines solchen Strömungspotentials, sondern nur, ob diese Größe als Differenz im  $\zeta$ -Potential zwischen stromauf- und stromabwärtigem Zellpole Werte um 30 mV erreichen kann, die laut Abb. 5 für eine Reaktion um 50 % nötig sind. Da die Ladungsdichte der Zellwand und damit das  $\zeta$ -Potential nicht bekannt sind, muß die Frage offen bleiben.

### 3. Der Primärvorgang bei der Elektro-Induktion

Aus der Existenz des elektrischen Feldes im Medium folgt für die elektrische Potentialdifferenz am Plasmalemma der Zelle (= Membranspannung), daß eine Abweichung in Abhängigkeit von der Feldstärke auftritt. Daher liegt nichts näher, als in dieser räumlich differenzierten Abweichung den Primäreffekt des elektrischen Feldes auf die Zelle zu suchen. Andere Induktionsmechanismen sind prinzipiell nicht auszuschließen – beispielshalber eine extracelluläre Elektrophorese von der Zelle emittierter, morphogenetisch wirksamer Substanzen; hiermit wäre die Elektro-Induktion letztlich eine Rheo-Induktion. Nach dem im vorigen Abschnitt Gesagten ist das ein Zirkelschluß, der solange unlösbar ist, wie nicht feststeht, daß rheogene Konzentrationsgradienten morphogenetisch wirksamer Substanzen in der Lage sind, Orientierungsgrade einer Population von 60 bis 80 % hervorzurufen. Daher wird zunächst versucht, die Elektro-Induktion auf der Basis des eingangs skizzierten elektrochemischen Konzepts von der Zellmembran zu fassen.

#### a) Das Potentialprofil der Zelle

Für die *Fucus*zygote – der allein die folgende Diskussion gewidmet ist, weil die Informationen von den übrigen Fällen noch keine ausführliche Diskussion erlauben – soll das Potentialprofil in Abhängigkeit von der herrschenden transcellulären Potentialdifferenz  $U_z$  abgeschätzt werden. Der OHMSche Widerstand der Zelle  $R_z$  setzt sich aus dem Widerstand des Plasmalemmas der anodisch und kathodisch gerichteten Zellflanke  $R_p$  bzw.  $R'_p$  (vgl. S. 324) und dem des Cytoplasmas  $R_c$  zusammen:

$$R_z = R_p + R_c + R'_p. \quad (7)$$

Unter der vereinfachenden Annahme, die parallel zum Feld verlaufenden Zellflanken würden nicht vom Strom durchflossen, ergibt sich für  $R_c$  (JAFKE, 1966, hatte für  $\varrho = 230 \text{ Ohm} \cdot \text{cm}$  gemessen):

$$R_c = \varrho \frac{l}{q} = 230 \cdot \frac{6 \cdot 10^{-8}}{3,6 \cdot 10^{-5}} \text{ Ohm} \approx 4 \cdot 10^4 \text{ Ohm}.$$

Während  $R_c$  als OHMScher Widerstand aufgefaßt werden kann, ist das für den Widerstand des Plasmalemmas  $R_p$  nur in erster Näherung möglich, da er nicht konstant ist. Er hängt u. a. vom Verhältnis der  $K^+$ -Konzentrationen zwischen Zelle ( $K_i^+$ ) und Medium ( $K_a^+$ ) ab. An *Chara*-Zellen fanden HOPE und WALKER (1961) für  $K_i^+ > K_a^+$  eine Begünstigung des  $K^+$ -Effluxes, d. h. Gleichrichtung. Die wachsende *Neurospora*-Hyphe zeigte dagegen keine Gleichrichtung (SLAYMAN 1965). Da das letztere Objekt für den entwicklungsphysiologischen Zusammenhang viel relevanter ist, soll der Widerstand des Plasmalemmas der *Fucus*zygote vorerst als OHMScher Widerstand aufgefaßt werden. Der flächenbezogene Membranwiderstand  $r$  ist für die *Fucus*zygote nicht gemessen; bei *Neurospora* (SLAYMAN 1965) beträgt  $r = 5 \text{ kOhm} \cdot \text{cm}^2$  und liegt im allgemein bekannten Bereich von 1 bis 10  $\text{kOhm} \cdot \text{cm}^2$ .

Für den Widerstand des Plasmalemmas  $R_p$  ergibt sich dann:

$$R_p = \frac{r}{q} = 5 \cdot 10^9 \frac{10^{-6}}{3,6 \cdot 10^5} \text{ Ohm} \approx 10^8 \text{ Ohm}.$$

Aus dem angelegten elektrischen Feld folgt für die Zelle die transcelluläre elektrische Potentialdifferenz

$$U_z = {}_1E_a - {}_2E_a, \quad (8)$$

wobei  ${}_1E_a$  das elektrische Potential des Mediums an der anodisch und  ${}_2E_a$  das an der kathodisch gerichteten Zellflanke darstellt. Die Spannung  $U_z$  zerfällt analog Gl. (7) in die Teilspannungen am Plasmalemma  $U_p$  bzw. am Cytoplasma  $U_c$  gemäß

$$U_z = U_p + U_c - U_p'. \quad (9)$$

Für  $U_c$  gilt dann:

$$U_c = \frac{R_c}{R_z} U_z \approx 2 \cdot 10^{-4} U_z,$$

und für  $U_p$  (bei  $R_p = R'_p$ ):

$$U_p = \frac{R_p}{R_z} \cdot U_z \approx 0,5 U_z.$$

Die angelegte Spannung wird somit praktisch ausschließlich am Plasmalemma liegen, und zwar zu 50 % pro Zellflanke, solange sich deren Membranen identisch verhalten ( $R_p = R'_p$ ). Diese Bedingung wird in folgenden Überlegungen als näherungsweise erfüllt betrachtet.

Die elektrische Spannung am Plasmalemma,  $E$ , sei

$$E = E_i - E_a, \quad (10)$$

wobei  $E_i$  das stromlose elektrische Potential des Cytoplasmas und  $E_a$  das stromlose elektrische Potential des Mediums bedeutet. Wegen  $E_a > E_i$  ist  $E$  negativ.

$E$  ist für die *Fucus*zygote noch nicht gemessen worden, dürfte aber zwischen  $-50$  und  $-100$  mV liegen, wenn man andere marine Algen zum Vergleich heranzieht: an *Rhodomenia palmata* maßen MACROBBIE und DAINTY (1958) eine Spannung zwischen Medium und Vakuole von  $-65$  mV; BLOUNT (1958) fand für *Halicystis ovalis*  $-80$  mV. Wegen der geringeren Ionenselektivität des Tonoplasten spiegeln diese Werte im wesentlichen die Spannung am Plasmalemma.

Am folgenden Schema soll das Potentialprofil der *Fucus*zygote beurteilt werden. Die Potentiale an den beiden senkrecht zum angelegten Feld orientierten Zellflanken 1 und 2 werden mit den Indizes 1 bzw. 2 notiert. So gilt für die Plasmalemmaspannung auf Flanke 1:

$${}_1E = {}_1E_i - {}_1E_a, \quad (10\ a)$$

und für Flanke 2:

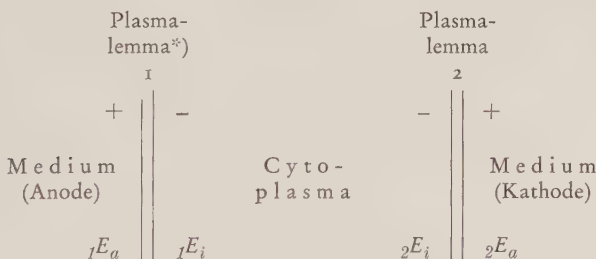
$${}_2E = {}_2E_i - {}_2E_a. \quad (10\ b)$$

Für die transcelluläre Differenz in der Plasmalemmaspannung gilt:

$$\Delta E = {}_1E - {}_2E \quad (11)$$

und für die transcytoplasmatische Potentialdifferenz:

$$\Delta E_i = {}_1E_i - {}_2E_i. \quad (12)$$



Nun gilt für den Fall  $U_z = 0$ :

$$\Delta E = {}_1E_i - \Delta E_a = 0.$$

Herrscht aber eine Spannung  $U_z$ , so gilt im Zeitpunkt  $t = 0$ :

$$\Delta E_a = U_z \approx {}_2U_p \quad (8\ a)$$

und

$$\Delta E_i = U_c = 2 \cdot 10^{-4} U_z; \quad (12\ a)$$

und zwar gilt für Zellflanke 1 analog Gl. (10 a):

$${}_1E = {}_1E_i - ({}_1E_a + U_p) \quad (13\ a)$$

\*) Das wahre Verhältnis von Plasmalemmadicke zu Zelldurchmesser beträgt etwa  $1 : 10^4$ .

und für 2 entsprechend Gl. (10 b):

$${}_2E = {}_2E_i - ({}_2E_a - U_p), \quad (13 \text{ b})$$

und somit für die Plasmalemmaspannung:

$$|{}_1E| > |{}_0E| > |{}_2E|, \quad (13 \text{ c})$$

wobei  ${}_0E$  die Membranspannung für  $U_z = 0$  ist.

Nach Aufbau des Feldes wird entsprechend  $U_z/R_z$  der Strom  $I_z$  fließen, an dem  $K^+$ -Ionen entscheidenden Anteil haben (vgl. unten). Dadurch wird  ${}_1E$  sinken, d. h. das Plasmalemma auf der Flanke 1 depolarisiert; entsprechend wird  ${}_2E$  steigen (— Hyperpolarisation). Dadurch wird  $\Delta E_i$  (vgl. 12 a) anwachsen und dabei  $U_c$  werden. Zu einem Zeitpunkte  $t'$  (20–60 min nach Aufbau des Feldes) wird sich in der Zelle ein elektrochemisches Gleichgewicht einstellen, das ohne Kenntnis der Ionenkonzentrationen von  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{++}$  und  $Cl^-$  nicht abgeschätzt werden kann. Diffusion wird dabei dem elektrochemischen Gradienten entgegenwirken und Gl. (13 c) braucht dann nicht mehr gültig zu sein. Die Zeit von 20 bis 60 min wird meistens für die Einstellung einer durch Veränderung des Ionenmilieus der Zelle verschobenen Membranspannung angesetzt (vgl. BRIGGS *et al.* 1961).

#### b) Die Wirkung von $K^+$ -Ionen auf die Potentialdifferenz am Plasmalemma

Um erste Anhaltspunkte für einen quantitativen Zusammenhang zwischen Reaktion ( $V_k$  in Abb. 5) und der Plasmalemmaspannung zu gewinnen, soll versucht werden, die Höhe dieser Potentialdifferenz durch eine Veränderung des Ionenmilieus der Zelle zu beeinflussen. An vielen tierischen (vgl. SCHOFFENIELS 1967) und pflanzlichen Zellen (vgl. DAINY 1962, HOPE u. WALKER 1961) hat sich nämlich herausgestellt, daß die Plasmalemmaspannung unter gewissen Bedingungen von den  $K^+$ -Ionen kontrolliert wird. Dabei ist diese Potentialdifferenz in erster Näherung durch die Differenz in der  $K^+$ -Konzentration zwischen Zelle und Medium gemäß der NERNSTschen Gleichung (14) gegeben:

$$E \approx E_K = {}_iE_K - {}_aE_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{K_a^+}{K_i^+} \quad (14)$$

Hier bedeuten:

|           |                                                  |
|-----------|--------------------------------------------------|
| $E$       | = Plasmalemmaspannung                            |
| $E_K$     | = von $K^+$ -Ionen kontrollierte Membranspannung |
| ${}_iE_K$ | = elektrisches Potential von $K^+$ in der Zelle  |
| ${}_aE_K$ | = elektrisches Potential von $K^+$ im Medium     |
| $R$       | = universelle Gaskonstante                       |
| $T$       | = absolute Temperatur                            |
| $F$       | = FARADAY-Konstante                              |
| $K_a^+$   | = $K^+$ -Konzentration im Medium                 |
| $K_i^+$   | = $K^+$ -Konzentration in der Zelle.             |

Bei 15° C nimmt Gl. 14 diese Form an:

$$E \approx E_K = 57 \cdot \log \frac{K_a^+}{K_i^+} \text{ mV.} \quad (14 a)$$

Die Beziehung  $E \approx E_K$  gilt, solange die Membran ihre normale, streng selektive Permeabilität für  $K^+$ -Ionen zeigt (oft findet man für das Verhältnis der Permeabilitätskoeffizienten  $P_{Na^+}/P_{K^+}$  den Wert 0,05; HOPE u. WALKER 1961, MACROBBIE u. DAINTY 1958). Die Beziehung ist ferner nur gültig, wenn gilt:  $K^+$ -Influx =  $K^+$ -Efflux. Dann beobachtet man entsprechend Gl. (16 a) einen linearen Zusammenhang zwischen  $E$  und  $\log K_a^+$  dergestalt, daß  $E$  um 57 mV steigt/fällt, wenn  $K_a^+$  um den Faktor 10 gesenkt/erhöht wird. 57 mV pro Zehnerpotenz werden allerdings selten gefunden (HIGMAN et al. 1964 an *Electrophorus*); für *Chara australis* sind es 55 mV (HOPE u. WALKER 1961), bei der *Neurospora-Hyphe* nur 45 mV (SLAYMAN 1965). Die Bedingung  $P_{Na} \ll P_K$  gilt offensichtlich nicht immer so streng. Aber Proportionalität zwischen  $E$  und  $\log K_a^+$  wurde in allen Fällen über ein bis zwei Zehnerpotenzen hinweg gefunden.

Wenn man für die *Fucus*zygote nur einmal diese letztere Bedingung,  $E$  proportional  $E_K$ , annimmt, so sollte sich der vermutete Zusammenhang zwischen Polaritätsinduktion und einer Differenz in der Plasmalemmaspannung ( $\Delta E$  laut Gl. 11) in der induzierten Wirkung eines transcellulären  $K^+$ -Konzentrationsgradienten äußern. Dieser  $K^+$ -Effekt wurde beobachtet (BENTRUP et al. 1967; siehe Tabelle 2). Aus methodischen Gründen ergab sich dort ein konstantes Verhältnis  $[K_a^+]_1/[K_a^+]_2$  von 1,6. Aus Gl. (14 a) folgt dafür ein elektrochemischer Gradient von 11,6 mV.

Im Falle der Induktion durch ein elektrisches Feld ist die Bedeutung der  $K^+$ -Ionen recht sicher belegt, wenn es möglich ist, die Induktionsgrößen (Spalte 4 in Tabelle 2) durch eine transcelluläre Spannung  $U_z$  um 10 mV bei verschiedenen Werten für  $K_a^+$  (Spalte 3) zu reproduzieren.

Tabelle 2

Induktion der Polarität bei *Fucus furcatus* durch einen transcellulären  $K^+$ -Konzentrationsgradienten. Alle Konzentrationen in mM/Ltr. (Nach Daten aus BENTRUP et al. 1967).

| 1<br>Zellflanken                                 |                                                  | 2<br>Konzentrations-<br>gradient                                                         | 3<br>mittlere<br>Konzentration | 4<br>Induktions-<br>vektor* in 0/0 |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| 1<br>[K <sup>+</sup> <sub>a</sub> ] <sub>1</sub> | 2<br>[K <sup>+</sup> <sub>a</sub> ] <sub>2</sub> | [K <sup>+</sup> <sub>a</sub> ] <sub>1</sub> /[K <sup>+</sup> <sub>a</sub> ] <sub>2</sub> | $\frac{[K^+]_1 + [K^+]_2}{2}$  |                                    |
| 10,0                                             | 10,0                                             | 1                                                                                        | 10**)                          | - 1 ± 6                            |
| 6,1                                              | 3,9                                              | 1,6                                                                                      | 5                              | - 17 ± 12                          |
| 12,3                                             | 7,7                                              | 1,6                                                                                      | 10                             | - 9 ± 14                           |
| 24,5                                             | 16,5                                             | 1,6                                                                                      | 20                             | 9 ± 8                              |
| 49,0                                             | 31,0                                             | 1,6                                                                                      | 40                             | 36 ± 12                            |
| 98,0                                             | 62,0                                             | 1,6                                                                                      | 80                             | 37 ± 6                             |

\*) Die Werte sind positiv, wenn der Rhizoidpol auf der  $[K_a^+]_1$  zugewandten Zellflanke entstand.

\*\*)  $K^+$ -Konzentration des natürlichen Seewassers.

Das Ergebnis dieses Versuches ist in Abb. 10 für verschiedene Feldstärken und für einen Konzentrationsbereich (Abszisse) von 3 mM bis 30 mM  $K_a^-$  dargestellt. Das Diagramm spiegelt die Äquivalenz der beiden – schon in der Einleitung genannten – experimentellen Ansätze recht gut. Die punktierte Kurve für *F. furcatus* ist aus Tabelle 2 gewonnen.

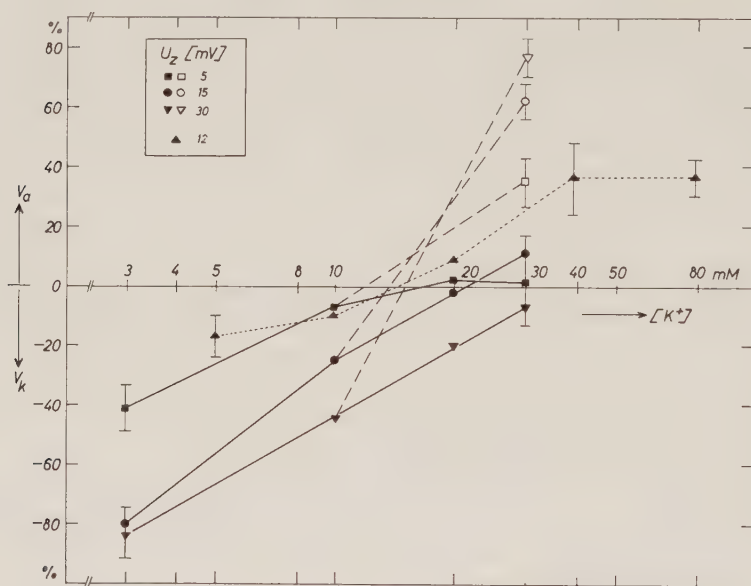


Abb. 10: Abhängigkeit der Elektro-Induktion der Polarität (Ordinate) bei *Fucus furcatus* (punktierte Kurve) bzw. *F. serratus* von der  $K^+$ -Konzentration des Mediums (Abszisse) für verschiedene Feldstärken (siehe Kasten). Die offenen Symbole repräsentieren einen, die geschlossenen drei Versuche pro Kurvenpunkt (nur für 10 mM sind es sechs); die offenen und geschlossenen Symbole bei 30 mM spiegeln uni- bzw. bipolare Orientierung der Rhizoidpole (vgl. Text). Die Werte für *F. furcatus* sind aus den Spalten 3 und 4 der Tabelle 2 gewonnen. Die Exposition von *F. serratus* erfolgte zwischen 3 und 9 h, von *F. furcatus* zwischen 3 und 15 h nach Befruchtung.

Fig. 10: Electro-response of *Fucus* eggs versus the medium's potassium ion concentration. See box for  $U_z$ -values tested. The triangular dots are drawn from table 2, columns 3 and 4, and refer to data on *Fucus furcatus* by BENTRUP et al. 1967. The parallel open and solid symbols (on *Fucus serratus*) represent a unipolar resp. bipolar outgrowth distribution (cf. fig. 3), the difference being inexplicable yet.

### c) Die kathodische Reaktion

Das interessanteste Merkmal am Diagramm in Abb. 10 ist die lineare Beziehung zwischen  $V_k$  und  $\log K_a^+$ . Aus dieser Beziehung

$$V_k \sim \log K_a^+$$

kann man über die Beziehung  $\log K_a^+ \sim E_K$  (Gl. 14) für  $V_k$  folgern:

$$V_k \sim \Delta E_K;$$

dabei ist  $\Delta E_K$  die Veränderung der Membranspannung, die sich aus Gl. (14) durch Veränderung von  $K_a^+ \leq 10$  mM ergibt.

Aus

$$V_k \sim \Delta E_K$$

folgt ohne weiteres

$$V_k \sim E_K$$

und somit schließlich

$$V_k \sim E.$$

Die kathodische Reaktion  $V_k$  wäre demnach an die absolute Höhe der Plasmalemma-spannung  $E$  geknüpft.

Man mag diese Proportionalität für nicht beweisfähig halten und einwenden, daß der tonische Einfluß von  $K_a^+$  auf die Reaktion unspezifisch sein könne und den Schluß auf den Zusammenhang von  $\Delta E_K$  bzw.  $E$  und  $V_k$  nicht rechtfertige. Dagegen spricht die Parallelität der Geraden für  $V_k$  in Abb. 10, die es gestattet, etwa für das Niveau  $V_k = -40$  % abzulesen, daß die Abnahme der Feldstärke im Verhältnis 30 : 15 : 5 durch den Abfall von  $K_a^+$  im Verhältnis von etwa 11 : 7 : 3 kompensiert wird. Diese beiden Relationen 6 : 3 : 1 bzw. 4 : 2,3 : 1 dürften beim vorliegenden Versuchsumfang nicht signifikant verschieden voneinander sein und daher den genannten Einwand entkräften. Eine formelmäßige Argumentation auf der Basis des Potentialprofils der Zelle erfolgt in Abschnitt e).

#### d) Die anodische Reaktion

Für  $K_a^+ > 10$  mM weist Abb. 10 für *F. serratus* eine anodische Reaktion aus – in Übereinstimmung mit *F. furcatus* und formal auch mit dem Befund LUNDS (1923) an *F. inflatus*. Wie die Kurvenpunkte (○) zeigen, kann eine Spannung  $U_z = 15$  mV zu einer kathodischen Reaktion führen (80 % bei  $K_a^+ = 3$  mM), praktisch wirkungslos bleiben (20 mM) oder eine anodische Reaktion auslösen (60 % bei 30 mM). Es ist gut denkbar, daß dieser Wechsel im Reaktionssinn nicht diskontinuierlich ist, daß also die anodisch und die kathodisch gerichtete Zellflanke im 10 mM-Bereich um den Rhizoidpol konkurrieren. Dies könnte entweder zu Zellen mit zwei Rhizoidpolen führen oder innerhalb einer Population sollten die Zellen entweder anodisch oder kathodisch keimen. Dieses letztere bipolare Verteilungsmuster (bekannt von der Reaktion der Zellen auf linear polarisiertes Licht; BENTRUP 1963) wurde beobachtet bei Populationen, deren Reaktion kathodisch im Bereiche  $K_a^+ > 10$  mM ausfiel. Vom 15-mV-Kurvenpunkt bei 30 mM  $K_a^+$  stammte die bipolare Verteilung in Abb. 3. Die mit offenen Symbolen (○, □, △) bezeichneten Werte in Abb. 10 spiegeln dagegen eine streng unipolare Ver-

teilung (vgl. auch Abb. 3). Drei Versuche ergaben eine bipolare, einer die unipolare Orientierung. Dieser Unterschied mag u. a. auf der nicht konstant gehaltenen Zeitspanne zwischen Inkubation der Zellen mit dem 30-mM- $K_a^+$ -Medium und dem Beginn der Feldwirkung beruhen; hier ergibt sich ein Ansatzpunkt für klärende Experimente.

Daß die Zelle nur bei 10 mM physiologisch neutral ist ( $E = {}_0E$ ), läßt sich der Abb. 10 wie folgt entnehmen: Wenn man die drei Geraden ( $V_k$ ) für 0% Reaktion extrapoliert und die so gewonnenen  $K_a^+$ -Werte gegen  $U_z$  aufträgt, so resultiert eine Gerade, die extrapoliert für  $U_z$  gleich null den Wert  $K_a^+ = 10$  mM liefert.

#### e) Das Vorzeichen der Elektro-Induktion

Läßt sich nun in dem oben skizzierten Potentialprofil der Zelle ein Parameter finden, der für den Wechsel von  $K_a^+ < 10$  mM nach  $K_a^+ > 10$  mM ebenfalls sein Vorzeichen ändert und somit für den Vorzeichenwechsel der Reaktion verantwortlich sein könnte?

Wenngleich keine quantitativen Angaben zum Potentialprofil der Zelle möglich sind, so ist es doch sicher, daß die im Sinne der Elektrophorese-Theorie SPEKS (1930) wichtige transcytoplasmatische Potentialdifferenz ( $\Delta E_i$  laut Gl. 12) stets positiv ist, da auf Grund der angelegten Felder Flanke 2 auf niedrigerem Potential liegt als 1. Das angelegte elektrische Feld und die von ihm induzierte Zellpolaritätsachse stimmen also laut Abb. 10 bei der *Fucus*zygote nicht grundsätzlich überein. [Es liegt nahe, diesen Schluß auf die *Equisetum*spore auszudehnen, weil auch sie einen Vorzeichenwechsel ihrer Reaktion im elektrischen Feld zeigt (Abb. 7).]

Das gefundene bipolare Verteilungsmuster des Rhizoidpoles innerhalb einer Population stützt diese Annahme: Wenn nämlich der transcytoplasmatische Gradient infolge  $\Delta E_i$  wirklich maßgeblich für das Wuchsmuster der Zelle wäre, so impliziert ein Vorzeichenwechsel dieser Größe, d. h. eine Gradientenumkehr, eine Indifferenzzone ( $\Delta E_i$  gleich null), wo Zufallsverteilung und nicht die beobachtete bipolare auftreten sollte.

Vielmehr scheint, was bereits unter Punkt c) mit der Beziehung  $V_k \sim E$  behauptet wurde, die Reaktion mit der Höhe der Membranspannung an den Zellflanken korreliert zu sein. Die Membranspannung auf einer Zellflanke  $E_p$  setzt sich aus  ${}_0E$  und, je nach Feldrichtung und  $K_a^+$ , positiven oder negativen Beträgen von  $U_p$  (bzw.  $U'_p$ ) und  $\Delta E_K$  zusammen.

Für  $\Delta E_K$  gilt dabei:

$$K_a^+ > 10 \text{ mM: } {}_nE = {}_0E - \Delta E_K \text{ (Depolarisation),}$$

$$K_a^+ = 10 \text{ mM: } {}_nE = {}_0E,$$

$$K_a^+ < 10 \text{ mM: } {}_nE = {}_0E + \Delta E_K \text{ (Hyperpolarisation).}$$

Wenn außerdem an der Zellflanke 1 die Spannung  $U_p$  und an der Flanke 2 entsprechend  $-U'_p$  herrscht, so gilt nach Gl. (13 a, b) für die Plasmalemmaspannung im Fall

A) für  $\Delta E_K > 0$

auf Flanke 1:

$${}_1E = {}_0E - \Delta E_K + U_p, \quad (15\ a)$$

auf Flanke 2:

$${}_2E = {}_0E - \Delta E_K - U'_p; \quad (15\ b)$$

B) für  $\Delta E_K < 0$

auf Flanke 1:

$${}_1E = {}_0E + \Delta E_K + U_p, \quad (15\ c)$$

auf Flanke 2:

$${}_2E = {}_0E + \Delta E_K - U'_p. \quad (15\ d)$$

Diese vier Gleichungen gelten für den stromlosen Zustand. Stromfluß (hauptsächlich  $K^+$ -Ionen) führt auf Flanke 1 zu Depolarisation und auf 2 zu Hyperpolarisation. Daher wird in Gl. (15 a und c) der Betrag von  $\Delta E_K$  auf Kosten von  $U_p$  wachsen und Gl. (15 b und d) zugunsten von  $U'_p$  fallen. Entsprechend wird  ${}_1E$  schrumpfen und  ${}_2E$  wachsen. Für den Fall A bedeutet das eine zusätzliche Depolarisation auf Flanke 1 (Gl. 15 a) und im Falle B eine zusätzliche Hyperpolarisation auf Flanke 2 (Gl. 15 d). Diese somit durch maximale De- bzw. Hyperpolarisation ausgezeichneten Flanken sind die Orte der gefundenen Rhizoidpolentstehung; Gl. (15 a) bezieht sich auf die anodische und (15 d) auf die kathodische Reaktion.

Als gemeinsame Beziehung ergibt sich, daß der Rhizoidpol auf der Flanke 1 entsteht, wenn die Differenz in der Plasmalemmaspannung  ${}_1E - {}_0E$  absolut größer ist als auf der gegenüberliegenden Flanke 2:

$$\left| \frac{{}_1E - {}_0E}{{}_2E - {}_0E} \right| > 1. \quad (16)$$

Für Rhizoidbildung auf Flanke 2 wird der Quotient in Gl. (16) entsprechend  $< 1$ . Die Beziehung (16) wird gleich eins für eine ideal bipolare Verteilung ( $V_a = V_k$ ) bzw. gleich null für eine apolare ( $V = 0$ ).

Diese formelmäßigen Schlußfolgerungen stellen einen Versuch dar, die beobachtete Reaktion, insbesondere ihren Vorzeichenwechsel, auf der Basis des qualitativ überschaubaren Ansatzes der Gl. (15 a bis d) zu verstehen.

Dieser Ansatz ist sicher nicht der einzig mögliche. Ein Vorzeichenwechsel ergibt sich z. B. auch für  $\Delta E$  (nach Gl. 11). Die Beziehung (13 c) braucht nämlich wie bereits bemerkt wurde, bei Stromfluß nicht gültig zu sein. Es läßt sich leicht zeigen, daß trotz der immer gültigen Bedingung

$${}_1E_a > {}_2E_a \text{ bzw. } {}_1E_i > {}_2E_i$$

für die Differenz zwischen den Flanken gelten kann:

$${}_1E > {}_2E, \text{ d. h. } \Delta E > 0$$

oder

$${}_1E < {}_2E, \text{ d. h. } \Delta E < 0.$$

Abschließend soll kurz überschlagen werden, ob eine Umladung des Plasmalemmas ( $E > 0$ ) unter den gegebenen Versuchsbedingungen wahrscheinlich ist. Dies ist ehestens im Falle maximaler Depolarisation (Gl. 15 a) zu erwarten. Hier würde  ${}_1E > 0$  für  ${}_0E < \Delta E_K'$ , wobei  $\Delta E_K' = \Delta E_K$  plus die maximal durch  $U_p$  verursachte Depolarisation sei. Diese Umladung ist nicht wahrscheinlich: Wenn man für  ${}_0E = -70$  mV setzt (s. o.), ferner für  $\Delta E_K = 25$  mV (den theoretischen Höchstwert für  $K_a^- = 30$  mM) und für  $U_p = 15$  mV, so errechnet sich für  ${}_1E = -70 + 25 + 15$  mV =  $-30$  mV.

## B. Elektro- und Phototropismus polarer Zellen

### 1. Elektrotrope Reaktionen – ein Überblick

Wie in Abb. 4 skizziert, ist das elektrische Feld stets senkrecht zur Symmetrieachse der terminalen Zelle der verschiedenen Keimlinge angelegt worden. Alle geprüften Objekte zeigten elektrotrope Reaktion.

Für zwei *Equisetum*-Arten sind vorläufige Befunde in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3

Elektrotropismus der terminalen Rhizoidzelle von *Equisetum limosum* bzw. *variegatum*. Die Krümmung der Rhizoidzelle wurde nur qualitativ ausgewertet:  $R_a$  heißt anodisch,  $R_k$  kathodisch gekrümmt; dann ist  $R = [(R_a - R_k) / (R_a + R_k)] \cdot 100\%$  der Reaktionswerte einer Population, deren Umfang in ( ) eingefügt ist.

| Exposition<br><i>h</i> | $U_z$ [mV] |           |            |            |           |          |            |
|------------------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|----------|------------|
|                        | 0          | 3         | 5          | 11         | 20        | 33       | 50         |
| <i>E. limosum</i> :    |            |           |            |            |           |          |            |
| 3                      | 1,0 (47)   | 0,0 (64)  |            | - 7,5 (80) |           | -10 (30) |            |
| 6                      |            | -47 (101) |            | -66 (79)   |           | -65 (60) |            |
| <i>E. variegatum</i> : |            |           |            |            |           |          |            |
| 6                      |            |           | + 3,5 (57) |            | + 18 (88) |          | + 32 (126) |

Die Ursache für den unterschiedlichen Reaktionssinn ist unbekannt: die Rhizoidzelle von *E. variegatum* krümmte sich signifikant anodisch, die von *E. limosum* kathodisch. Die Frage nach einem Elektrotropismus war hier gestellt worden, weil sich die *Equisetum*-Rhizoide als phototropisch nicht empfindlich zeigten. Es ist ja interessant zu erfahren, ob Zellen nur darum tropistisch nicht reizbar sind, weil sie z. B. den Lichtreiz nicht zu percipieren vermögen, oder vielmehr weil ihr Wachstumsmuster nicht modifizierbar ist. Im vorliegenden Falle gilt offenbar ersteres.

Tabelle 4

Elektrotropismus 36 h alter Chloronemen von *Funaria*. Die Krümmung ist in Winkelgrad, der Populationsumfang in ( ) angegeben. Die Reaktion ist kathodisch.

| Exposition<br>min | $U_z$ [mV] |         |        |
|-------------------|------------|---------|--------|
|                   | 0,9        | 0,3     | 0,1    |
| 60                | 25 (4)     | 5 (74)  | 4 (45) |
| 150               | 40 (33)    | 20 (38) | 9 (36) |

Zwei phototropisch empfindliche Objekte, das *Funaria*chloronema und das *Fucus*-rhizoid, reagierten kathodisch (Tabelle 4) bzw. anodisch (s. u.) – im Vorzeichen dabei ihrem Phototropismus parallel; dieser ist bei *Funaria* positiv, bei *Fucus* negativ.

## 2. Das tropistische Reaktionsbild beim *Fucus*rhizoid

Unter den elektrotrop reizbaren Objekten wurde das *Fucus*rhizoid für eine nähere Untersuchung ausgewählt. Ziel ist es, elektro- und phototrope Reaktion auf quantitativer Basis zu vergleichen. Die Frage nach dem Primärvorgang bei der elektrotropen Reaktion wurde zurückgestellt, wie dies im vorigen Kapitel mit der Frage nach dem Zusammenhang von Photo- und Elektro-Polaritätsinduktion geschah. Der Rhizoidtropismus bietet für einen Vergleich mehr morphologische Kriterien zu seiner Beurteilung, als die qualitativ homogene und quantitativ nur statistisch faßbare Polaritätsinduktion.

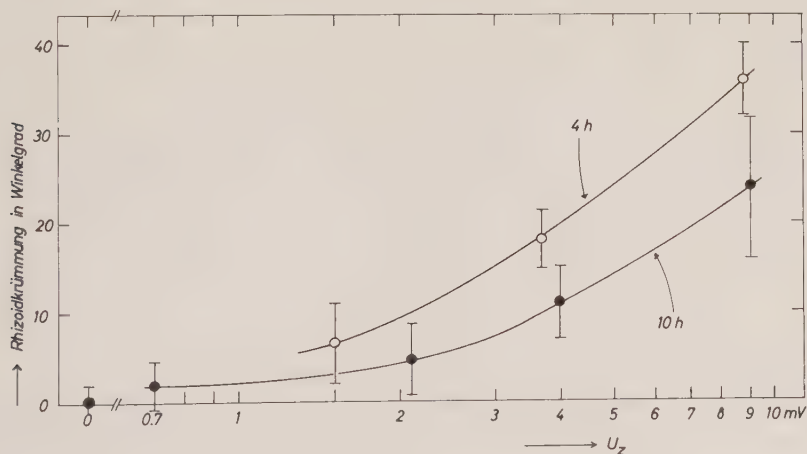


Abb. 11. Anodisch elektrotrope Krümmung (vgl.  $\alpha$  in Abb. 4) der terminalen Rhizoidzelle von *Fucus serratus* in Abhängigkeit von  $U_z$ . Die Kurven sind mit den Expositionszeiten beziffert.

Fig. 11: Anode-directed tropic curvature (cf.  $\alpha$  in fig. 4) of the terminal rhizoid cell of 24 hours old *Fucus* germlings versus  $U_z$ ; exposure 4 resp. 10 hours.

Die Mechanik der tropistischen Reaktion wurde nicht analysiert; es sprechen aber alle Beobachtungen dafür, daß es sich auch hier um extremes Spitzenwachstum handelt (vgl. Wuchspunkt  $W$  in Abb. 4), wie das ERZOLD (1965) für das *Dryopteris*-Chloronema nachwies. Die Reaktion würde demnach auf einer seitwärtigen Verlagerung des hypothetischen Wuchspunktes ( $W$  nach  $W'$  in Abb. 4) um  $\text{arc } \alpha$  beruhen, wobei  $\alpha$  der beobachtete Krümmungswinkel ist.  $\alpha$  ist aber nur dann der richtige Parameter, wenn die Reizstärke – bei konstanter Präsentationszeit – die Verlagerungsgeschwindigkeit determiniert und wenn die Wuchsgeschwindigkeit konstant ist. Letzteres wurde für die verwendete Präsentationszeit von 150 min gemessen; 150 min dürften ausreichen, um eine vielleicht vorhandene Licht- oder/und Elektrowachstumsreaktion (LWR bzw. EWR) zu überspielen. Lichtmikroskopisch ließ sich *in vivo* kein Unterschied zwischen elektrotrop und phototrop gekrümmten Rhizoiden erkennen.

### 3. Quantitativer Vergleich von elektro- und phototroper Reaktion der *Fucus*rhizoide

Die elektrote Reaktion als Funktion der Feldstärke ist in Abb. 11 aufgetragen. Das Ergebnis orientiert über Zunahme und Ausmaß der Reaktion; wie im Falle der Polaritätsinduktion liegt die Schwelle für eine Reizung bei 1 bis 2 mV pro Zelle (vgl. Abb. 5 und 6). Eine Inversion dieser anodischen Reaktion durch Senkung der  $K^+$ -Konzentration im Medium gelang nur insofern, als die anodische Krümmung schwächer wurde und sich der kathodisch reagierende Bruchteil der Population verdoppelte; das ist mit Tabelle 5 belegt.

Tabelle 5

Die Abhängigkeit der elektrotropen Reaktion der *Fucus serratus*-Rhizoide von der  $K^+$ -Konzentration des Mediums;  $U_z = 6$  mV; Exposition: 150 min.

| [K <sup>+</sup> ]<br>mM | N  | Krümmungswinkel<br>$\alpha$ (anodisch) | % der kathodisch<br>gekrümmten Rhizoide<br>( $\alpha \geq 30^\circ$ ) |
|-------------------------|----|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 3                       | 88 | $19,5 \pm 9$                           | 20                                                                    |
| 10                      | 96 | $48,0 \pm 6$                           | 10                                                                    |
| 30                      | 90 | $45,0 \pm 6$                           | 11                                                                    |

Die (negativ) phototrope Reaktion auf einseitig einfallendes Licht (vgl.  $L$  in Abb. 4,1) ist recht empfindlich: Expositionszeiten  $< 1$  min sind noch gut wirksam; die Reaktion streut dann allerdings beträchtlich. Für den Vergleich der beiden Tropismen wurde eine Expositionszeit von 150 min ausgewählt. Als Lichtqualität diente  $\lambda = 456$  nm, die optimale Wellenlänge für die Photo-Polaritätsinduktion, mit welcher der Phototropismus in der Empfindlichkeitsgrenze (bei 540 nm) identisch ist (BENTRUP 1963). Da vom Phototropismus zunächst kein Aktionsspektrum ausgearbeitet wurde, mußte auf diese Analogie zurückgegriffen werden. In Abb. 12 sind nun beide Reak-

tionen eingetragen und dabei im Abszissenmaßstab so einander angeglichen, daß die durchgezogene Kurve beide Reaktionen gleich gut repräsentiert. Daraus ergibt sich unmittelbar, daß die phototrope Reaktion pro Zehnerpotenz um  $20^\circ$ , die elektrotrope um  $24^\circ$  ansteigt. Diese Differenz von 20 % ist statistisch nicht sicherbar, zumal sich der dafür in Frage kommende lineare Teil der Kurve nur über 2 Zehnerpotenzen erstreckt.

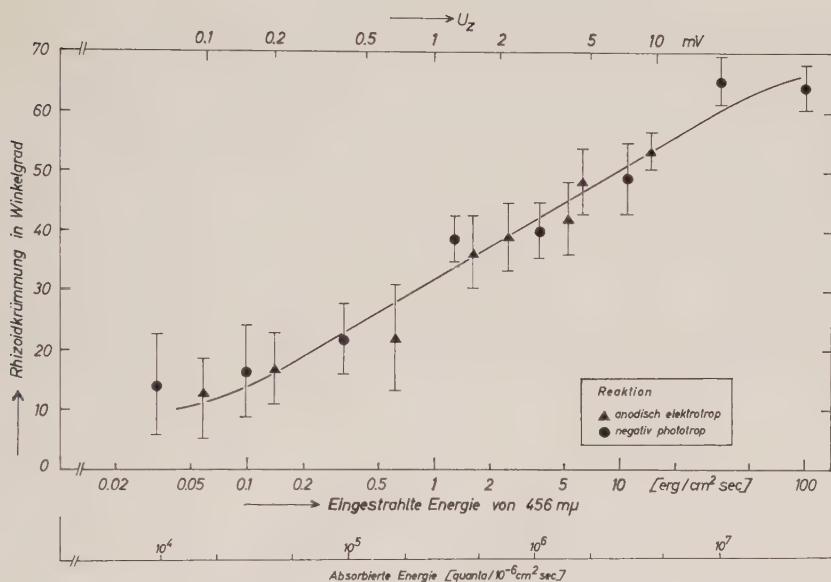


Abb. 12: Vergleichende Darstellung der photo- und elektrotropen Reaktion der Rhizoidzelle von *Fucus serratus* bei Exposition von 150 min. Die Berechnung der tropistisch wirksam absorbierten Energie (unterste Abszisse) geht davon aus, daß *in vivo*-mikrospektrophotometrisch bei 456 mμ die von der Rhizoidzelle absorbierte Energie zu 10 % der eingestrahlten (mittlere Abszisse) bestimmt wurde und daß ferner nur das apikale Drittel der Zelle für die Perzeption wichtig ist (vgl. DASSEK 1939).

Fig. 12: Comparative plot of the photo- and electro-induced tropic curvature (ordinate) of *Fucus* rhizoid cells exposed 150 minutes, versus  $U_z$  resp. light intensity. The estimate of the tropically effective absorbed energy (lowest abscissa) rests on *in vivo*-microspectrophotometric evidence, and on the assumption that absorption by only the cell's apical portion (30 %) is tropically relevant (cf. DASSEK 1939).

Stimmt nun diese Äquivalenz von elektro- und phototroper Reizung auch an ein und derselben Zelle? Kompensieren die Faktoren einander nach Maßgabe der aus Abb. 12 ersichtlichen Dosen? In bislang drei Versuchen ließ sich dies bejahen. Ein Versuch ist in Tabelle 6 festgehalten.

Tabelle 6

Quantitativer Vergleich sowie Kompensation von elektro- und phototroper Reaktion der *Fucus serratus*-Rhizoide. Expositionsdauer: 150 min. In den Fällen *c* und *d* werden die beiden Faktoren Licht (*L*) und elektrisches Feld (*E*) simultan geboten.

| Fall                                      | Absorbierte Strahlung<br>(456 nm)<br>[quanta/10 <sup>-6</sup> cm <sup>2</sup> sec]*) | U <sub>z</sub> [mV] | Krümmungs-<br>winkel $\alpha^{**}$ ) | ungekrümmte<br>Rhizoide in 0/0 |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| (a) Kontrolle <i>L</i>                    | 4,0 · 10 <sup>5</sup>                                                                |                     | -39,4 ± 4,4                          | 14                             |
| (b) Kontrolle <i>E</i>                    |                                                                                      | 1,5                 | +36,5 ± 6,0                          | 15                             |
| (c) <i>L</i> + <i>E</i><br>synergistisch  | 4,8 · 10 <sup>5</sup>                                                                | 1,2                 | 37,0 ± 3,2                           | 4                              |
| (d) <i>L</i> + <i>E</i><br>antagonistisch | 4,8 · 10 <sup>5</sup>                                                                | 1,2                 | +2,1 ± 7,8                           | 23                             |

\*) Die Dimension ist in der Legende zu Abb. 12 erläutert.

\*\*)  $\alpha$  wird positiv für die anodische und negativ für die (negativ) phototrope Reaktion; im Fall *c* stimmt  $\alpha$  im Vorzeichen mit *a* und *b* überein.

Das Kompensationsexperiment (Fall *d* in Tabelle 6) ergibt einen Wert von rund 2°, der von beiden Kontrollen *a* und *b* hochsignifikant verschieden ist, die Abweichung der Dosen voneinander bis zu 25 % wird das nicht ändern, wie man aus Abb. 12 leicht abschätzen kann. Die Kompensation betrifft sowohl die einzelne Zelle (keine Krümmung) als auch die Population (gleiche Anteile elektro- wie phototrop gekrümmter Zellen), wie die letzte Spalte lehrt.

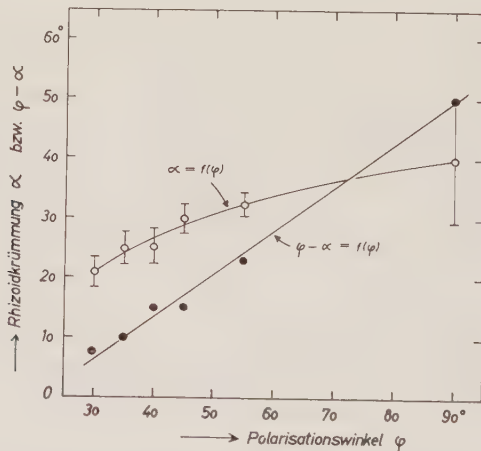


Abb. 13: Polarotrope Krümmung  $\alpha$  der Rhizoidzelle von *Fucus serratus* in Abhängigkeit vom Polarisationswinkel  $\varphi$  (vgl. Abb. 4). Exposition: 14 h bei einer Lichtintensität von 2 erg/cm<sup>2</sup> · sec der Wellenlänge  $\lambda = 456$  nm.

Fig. 13: Polarotropic curvature  $\alpha$  of the *Fucus* rhizoid cell versus the angle  $\varphi$  (cf. fig. 4).

Worin liegt nun die Gemeinsamkeit von Photo- und Elektrotropismus, die einem quantitativen Vergleich den Sinn gibt? Viele Indizien sprechen dafür, daß in phototrop reizbaren Zellen Susceptions-, Perceptions- und Reaktionsort im Ektoplasma liegen. Wichtiges Indiz für die periphere Susception ist die Existenz einer polarotropen Reaktion (vgl. BENTRUP 1963), die für den vorliegenden Fall mit Abb. 13 belegt sei, ohne daß deren Einzelheiten diskutiert werden sollen.

Da ferner das Zellwuchsmuster als Abbild des Absorptionsmusters verstanden werden kann, erscheinen Perception und Reaktion räumlich eng beieinander. Nun hat ja der Abschnitt A dieses Kapitels recht wahrscheinlich gemacht, daß auch die morphogenetische Wirkung elektrischer Felder im Ektoplasma, nämlich am Plasmalemma zu suchen ist. Die Untersuchung und der Vergleich beider Faktoren bietet vielleicht mehr Einblick in den gesamten Wuchsorientierungsvorgang als jeder Faktor für sich genommen. Dieser Ansatz ist überlegenswert, weil die meisten photomorphogenetischen Untersuchungen in der Analyse des photochemischen Primärprozesses und damit der Susception steckenbleiben. Im vorliegenden Falle ist ein Ansatz sichtbar; Tabelle 6 nennt Äquivalenz von rund  $10^5$  Quanten pro sec und einen Millivolt pro Rhizoidzelle. Diese Information wird jedoch erst dann lesbar, wenn aus diesen absoluten Beträgen die wirksamen Gradienten und für beide dieselbe physikalische Dimension gefunden ist.

### Schluß

Die Deutlichkeit und Reproduzierbarkeit der gefundenen elektromorphogenetischen Reaktionen – Induktion und Modifikation von Zellwuchsmustern – kann so aufgefaßt werden, daß das angelegte elektrische Feld primär ein morphogenetisch wichtiges Organell der Zelle kontrolliert. Wie die Analyse der Kaliumionen-Wirkung zeigte, dürfte es sich hierbei um das Plasmalemma handeln. Der formelmäßige Ansatz kann zwar nicht die erstellte Hypothese beweisen, daß der Induktionsvorgang mit der Höhe der elektrischen Spannung am Plasmalemma korreliert ist. Er genügt aber, die Hypothese zu formulieren und damit Wege für ihre Prüfung zu weisen. Diese wird hauptsächlich darin bestehen, das Potentialprofil der Zelle als Funktion der verschiedenen gerichteten und tonischen Faktoren kennenzulernen und mit dem Zellwuchsmuster zu vergleichen.

Ein qualitativ und quantitativ überschaubarer Induktionsvorgang wird dann als gutes Instrument zur Untersuchung elektrophoretischer Vorgänge in der Zelle taugen und deren Bedeutung für die Morphogenese klären helfen. In den Fällen, wo die Reaktion ihr Vorzeichen wechselt, d. h. von der Feldrichtung unabhängig ist (bislang bei *Fucus*zygote und *Equisetum*spore beobachtet), ist die Notwendigkeit einer transcytoplasmatischen Elektrophorese unsicher. Es muß angesichts bipolarer Wuchsverteilungen im Sinne der oben erstellten Hypothese auch daran gedacht werden, daß das Plasmalemma morphogenetisch relativ autonom ist, indem eine induzierte lokale Änderung seiner elektrischen Spannung eine Änderung etwa seiner Konformation und Permeabilität hervorruft und so lokales Zellwachstum auslöst.

Auf den hier naheliegenden Zusammenhang zwischen Photo- und Elektro-Induktion wurde bei der Diskussion der Tropismen hingewiesen; er soll später auch an der Polariitätsinduktion studiert werden. Als neuer Gesichtspunkt mag dabei der einer direkten Wirkung des Lichtes auf die Plasmalemmaspannung hinzukommen. Immerhin stellten MACROBBIE u. DAINTY (1958) fest, daß in *Rhodymenia*-zellen der  $K^+$ -Influx, und zwar nur dieser, stark lichtabhängig ist.

Die elektrochemisch ausgelösten Morphogenesen können als empfindliches Instrument für elektrophysiologische Untersuchungen dienen und den methodischen Nachteil mildern, den diese embryonalen Zellen durch ihre geringen Abmessungen und ihre physiologische Labilität bieten. Insbesondere als Indikator örtlicher und zeitlicher Differenzen in der Plasmalemmaspannung erscheint die morphogenetische Reaktion unübertreffbar.

Für die Ausleihe von Geräten des Institutes für Physikalische Chemie zur Entwicklung und Erprobung vieler methodischer Einzelheiten danke ich Herrn Prof. Dr. W. JAENICKE. Herrn Doz. Dr. H. GÖHR und Herrn Dipl.-Phys. M. KÖNIG verdanke ich viele aufschlußreiche Diskussionen über elektrochemische Fragen sowie technische Beratung.

Bei Versuchsvorbereitung und mikroskopischer Auswertung der Präparate halfen mir Frl. B. BUND, Frl. G. MÖRTEL und Herr R. GÄRTNER, ferner Frl. A. BLOSSFELD, deren Assistenz mir Herr Prof. Dr. W. HAUPT gewährte. Herr O. GOEMANN von der Biologischen Anstalt Helgoland versorgte mich mit Algenmaterial.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft förderte meine Untersuchungen entscheidend.

### Literatur

- BENTRUP, F. W. MEYER ZU: Vergleichende Untersuchungen zur Polaritätsinduktion durch das Licht an der *Equisetum*spore und der *Fucus*zygote. *Planta* (Berl.) 59, 472–491 (1963).
- Zur Frage eines Photoinaktivierungs-Effektes bei der Polaritätsinduktion in *Equisetum*-sporen und *Fucus*zygoten. *Planta* (Berl.) 63, 356–365 (1964).
- BENTRUP, F. W.: Zur Morphogenese pflanzlicher Zellen im elektrischen Feld. *Naturwiss.* 54, 620–621 (1967).
- BENTRUP, F. W., and L. JAFFE: Rheotropic responses of developing *Fucus* eggs. Abstracts II. Int. Biophys. Congr. (Vienna), Beitrag Nr. 284 (1966).
- Analyzing the group effect: rheotropic responses of developing *Fucus* eggs. *Protoplasma* 65, 25–35 (1968).
- BENTRUP, F. W., T. SANDAN and L. F. JAFFE: A method for establishing known concentration gradients across developing cells. *J. Cell Biol.* 27, 10 A (1965).
- Induction of polarity in *Fucus* eggs by potassium ion gradients. *Protoplasma* 64, 254–266 (1967).
- BLOUNT, R. W.: A quantitative analysis of active transport in the single-celled alga *Halicystis ovalis*. Diss. Univ. California, Los Angeles 1958.
- BRIGGS, G. E., A. B. HOPE and R. N. ROBERTSON: Electrolytes and plant cells. Blackwell Scientific Publ. Oxford 1961.
- DAINTY, J.: Ion transport and electrical potentials in plant cells. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 13, 379–402 (1962).
- DASSEK, M.: Der Phototropismus der Lebermoosrhizoide. *Beitr. z. Biol. d. Pfl.* 26, 125–200 (1939).
- ETZOLD, H.: Der Polarotropismus und Phototropismus der Chloronemen von *Dryopteris filix mas* (L.) SCHOTT. *Planta* (Berl.) 64, 254–280 (1965).

- GOLDMAN, D. E.: Potential, impedance, and rectification in membranes. *J. Gen. Physiol.* 27, 37–60 (1943).
- HAUPT, W.: Die Induktion der Polarität bei der Spore von *Equisetum*. *Planta (Berl.)* 49, 61–90 (1957).
- HIGMAN, H. B., T. R. PODLESKI and E. BARTELS: Correlation of membrane potential and potassium flux in the electroplax of *Electrophorus*. *Biochim. Biophys. Acta* 79, 138–150 (1964).
- HODGKIN, A. L.: The conduction of the nervous impulse. Liverpool University Press, Liverpool (1964).
- HOPE, A. B. and N. A. WALKER: Ionic relations of cells of *Chara australis* R. Br. IV. Membrane potential differences and resistances. *Aust. J. Biol. Sci.* 14, 26–44 (1961).
- JAFFE, L.: Electrical currents through the developing *Fucus* egg. *Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.)* 56, 1102–1109 (1966).
- Localization in the developing *Fucus* egg and the general role of localizing currents. *Advances in Morphogenesis* (im Druck).
- LUND, E. J.: Electrical control of organic polarity in the egg of *Fucus*. *Botan. Gaz.* 76, 288–301 (1923).
- Bioelectric fields and growth. The University of Texas Press, Austin 1947.
- MACROBBIE, E. A. C., and J. DAINTY: Sodium and potassium distribution and transport in the seaweed *Rhodymenia palmata* (L.) Grev. *Physiol. Plant. (Kobh.)* 11, 782–801 (1958).
- MARSH, G., and H. W. BEAMS: The orientation of pollen tubes of *Vinca* in the electric current. *J. Cell. Comp. Physiol.* 25, 195–204 (1945).
- MATHEWS, A. P.: Electrical polarity in the hydroids. *Amer. J. Physiol.* 8, 294–299 (1903).
- MÜLLER, D., and L. JAFFE: A quantitative study of cellular rheotropism. *Biophys. J.* 5, 317–335 (1965).
- PÄTAU, K.: Zur statistischen Beurteilung von Meßreihen. (Eine neue *t*-Tafel). *Biol. Zentrbl.* 63, 152–168 (1943).
- SCHOFFENIELS, E.: Cellular aspects of membrane permeability. Pergamon Press, Oxford 1967.
- SLAYMAN, C. L.: Electrical properties of *Neurospora crassa*. Effects of external cations on the intracellular potential. *J. Gen. Physiol.* 49, 69–92 (1965).
- SPEK, J.: Zustandsänderungen der Plasmakolloide bei Befruchtung und Entwicklung des *Nereis*-Eies. *Protoplasma* 9, 370–425 (1930).
- TEORELL, T.: Transport processes and electrical phenomena in ionic membranes. *Progr. in Biophys. and Biophys. Chem.* 3, 305–369 (1953).
- USSING, H. H.: The distinction by means of tracers between active transport and diffusion. *Acta Physiol. Scand.* 19, 43–56 (1949).
- WENT, F. W.: Eine botanische Polaritätstheorie. *Jb. wiss. Bot.* 76, 528–557 (1932).
- WULFF, H. D.: Galvanotropismus bei Pollenschläuchen. *Planta (Berl.)* 24, 602–608 (1935).
- Doz. Dr. F.-W. BENTRUP, Institut für Biologie, 74 Tübingen, Auf der Morgenstelle



## L e b e n s l a u f

Am 17. Dezember 1935 wurde ich, Friedrich-Wilhelm Bentrup, als ältester dreier Söhne des Landwirts Hermann Meyer zu Bentrup und seiner Ehefrau Anna geb. Schürmann in Gadderbaum Kreis Bielefeld geboren. Nach Grundschulbesuch in Brönninghausen Kreis Bielefeld wechselte ich 1947 an das städtische Max-Planck-Gymnasium zu Bielefeld und schloß 1956 mit der Reifeprüfung ab.

In Freiburg/Breisgau begann ich im Sommersemester 1956, Biologie und Musik zu studieren und entschied mich im Laufe des Semesters für das naturwissenschaftliche Studium mit den Fächern Biologie, Chemie und Physik. Nach insgesamt vier Studienjahren an den Universitäten zu Freiburg, Berlin und Wien inskribierte ich zum Sommersemester 1960 an der Universität Tübingen.

Im Herbst 1960 begann ich auf dem Gebiete der pflanzlichen Entwicklungsphysiologie wissenschaftlich zu arbeiten: Auf Anregung und unter Anleitung meines Lehrers, des Prof. Dr. W. Haupt, fertigte ich eine Dissertation des Themas "Vergleichende Untersuchungen zur Polaritätsinduktion durch das Licht an der Equisetumspore und der Fucuszygote". Am 21. Februar 1963 promovierte ich zum Dr. rer. nat. in den Fächern Botanik, Zoologie und Physiologische Chemie.

Im März 1963 folgte ich Herrn Prof. Dr. W. Haupt an das Botanische Institut der Universität Erlangen. Hier war ich zunächst Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle; seit 1. September 1963 bin ich wissenschaftlicher Assistent. Von September 1964 bis März 1966 war ich beurlaubt für einen Forschungsaufenthalt am Biology Department der University of Pennsylvania, Philadelphia (U.S.A.). Dort arbeitete ich im Labor von Dr. L. Jaffe über physikalische Fragen der Entwicklungsphysiologie pflanzlicher Zellen.

